

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



PERITONITE INFECIOSA FELINA: CASUÍSTICA E FORMAS CLÍNICAS

CLÁUDIA MARIA URMAL ALMEIDA

ORIENTADOR(A):  
Doutora Solange Judite Coelho Alves Gil  
Neves

2020



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



PERITONITE INFECIOSA FELINA: CASUÍSTICA E FORMAS CLÍNICAS

CLÁUDIA MARIA URMAL ALMEIDA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Maria Manuela Grave Rodeia Espada  
Niza

ORIENTADOR(A):

Doutora Solange Judite Coelho Alves Gil  
Neves

VOGAIS:

Doutor Virgílio da Silva Almeida  
Doutora Solange Judite Coelho Alves Gil  
Neves

2020



## Declaração relativa às condições de reprodução da tese ou dissertação

Nome: Cláudia Maria Urmal Almeida

Título da Tese ou Dissertação: Peritonite Infeciosa Felina: Casuística, Formas Clínicas e Controlo Evolutivo

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2020

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado Integrado Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

☐ Clínica

☐ Produção Animal e Segurança Alimentar

☐ Morfologia e Função

☒ Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- ☐ Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- ☐ Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de ☐ 6 meses, ☐ 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

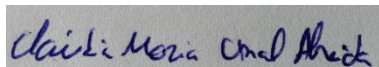
Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 21 de maio de 2020

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura:



## **Agradecimentos**

Várias foram as pessoas que contribuíram, de diversas formas, para a elaboração deste trabalho. Com ele termina uma etapa repleta de esforço, dificuldades, conquistas e aprendizagens.

Um agradecimento especial à Professora Doutora Solange Gil por ter aceite ser minha orientadora e me ter guiado nesta última etapa. Obrigado por toda a sua atenção, dedicação, simpatia, disponibilidade e conhecimento transmitido, pois sem ela teria sido impossível terminar esta missão.

À Doutora Inês Machado, por todo conhecimento transmitido durante o meu estágio, pela disponibilidade e por toda a ajuda na partilha e recolha de dados.

Muito obrigado ao Professor Telmo pelo tempo despendido comigo, na ajuda e transmissão de conhecimentos na análise dos dados.

À minha família por sempre me ter incentivado a lutar pelo meu sonho, por sempre me ter estado ao meu lado nas vitórias e derrotas que preencheram os meus últimos seis anos. Um especial obrigado à minha mãe e ao meu pai por nunca duvidarem de mim e me terem proporcionado as condições para que esta etapa se concretizasse. Muito obrigado aos meus pais, irmã e namorado por todo o apoio incondicional, pela paciência e encorajamento que tiveram durante todo este percurso cheio de altos e baixos.

Um especial obrigado às minhas companheiras de quatro patas, Brandy, Ginja e Julieta por todas as tentativas de desviar a minha atenção para as suas brincadeiras, por vezes com sucesso. Mas acima de tudo por me lembrarem do porquê deste último esforço.



## Peritonite Infeciosa Felina: casuística e formas clínicas

### Resumo

A peritonite infecciosa felina (PIF) é uma doença patogénica e fatal, causada pelo coronavírus felino (FCoV), capaz de induzir uma reação inflamatória sistémica.

A PIF é associada a falhas no sistema imunitário, nomeadamente à inibição da resposta humoral e celular, havendo um conjunto de fatores genéticos, ambientais e do hospedeiro que predispõem para o seu aparecimento.

Estudos recentes sugerem novos fármacos, promissores na cura da PIF. O GS-441524 revela-se muito promissor para todas as formas clínicas de PIF, relevando altas taxas de remissão. Contudo, não se encontra comercialmente disponível e são ainda necessários estudos para o licenciamento deste medicamento.

O presente estudo teve como objetivo caracterizar gatos diagnosticados com PIF na Unidade de Isolamento de Doenças Infecciosas do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, entre outubro de 2013 e novembro de 2019. Com o auxílio dos médicos responsáveis por este departamento foi possível a obtenção de dados, não só relativamente ao historial dos animais, como resultados de exames complementares. O diagnóstico foi realizado através de necropsia ou por deteção de coronavírus através de PCR em tempo real a partir de líquido de derrame torácico ou abdominal. A partir de janeiro de 2019 o diagnóstico foi otimizado recorrendo-se à deteção de mutações do coronavírus por PCR em tempo real em diferentes amostras (sangue, líquido de derrame, granulomas ou linfonodos).

Analisando os dados disponíveis, foi possível identificar na presente população os seguintes fatores de risco: idade, fator raça, origem e a presença de pelo menos um fator de stress antes do aparecimento dos sinais clínicos.

Perante os desafios económicos que esta doença carece desenvolveu-se um fluxograma para direcionar os recursos financeiros de forma a obter um diagnóstico definitivo *ante-mortem*, PCR em tempo real para deteção de mutações, e quando não é possível, *post-mortem*.

Palavras chave: coronavírus felino, fatores de risco, GS-441524, peritonite infecciosa felina





## **Feline Infectious Peritonitis: casuistry and clinical forms**

### **Abstract**

Feline infectious peritonitis (FIP) is a fatal and pathogenic disease caused by the feline coronavirus, which is responsible for inducing an inflammatory reaction.

FIP is responsible for a number of faults in the immune system, namely the inhibition of humoral and cellular response. A set of genetic, environmental and host factors can predispose its appearance.

Recent studies have shown promising new drugs in the treatment of FIP. GS-441524 has been reported as a very promising drug in the treatment of all clinical forms of FIP, with high rates of remission. However, it is not yet commercially available and studies are required to its licence. The present study aimed to study cats diagnosed with FIP, in the Infectious Diseases Isolation Unit of the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Lisbon, between October 2013 and November 2019. With the help of the doctors responsible for this department, it was possible to collect data regarding the animal's history, complementary test results. The diagnosis of FIP was made through autopsy or real time PCR positive for feline coronavirus in thoracic or abdominal fluid. Since January of 2019, the diagnosis was improved by using the real time PCR detection of mutation of feline coronavirus in different samples (blood, effusion fluid and granuloma or lymph nodes).

With the analysis of the available data, it was possible to identify in the present population the following risk factors: age, being of breed, origin and the presence of at least one stress factor before the appearance of clinical signs.

Facing the economic challenges of FIP, a flowchart has been developed to direct the financial resources in order to obtain a definitive *ante-mortem* diagnosis, real time PCR with detection of mutations, and if not possible, *post-mortem*.

Key-words: feline coronavirus, feline infectious peritonitis, GS-441524, risk factors



## Índice

Declaração relativa às condições de reprodução da tese ou dissertação.....	ii
Agradecimentos .....	iii
Peritonite Infeciosa Felina: casuística e formas clínicas .....	v
Resumo .....	v
Abstract.....	vii
Índice .....	ix
Índice de figuras.....	xi
Índice de gráficos.....	xi
Índice de tabelas.....	xi
Lista de abreviaturas e siglas .....	xiii
Estágio curricular .....	xiv
1. Coronavírus felino .....	1
2. Fatores predisponentes e apresentação clínica da PIF .....	5
2.1 Exames <i>pós-mortem</i> .....	7
3. Diagnóstico .....	7
3.1 Diagnósticos diferenciais.....	8
3.2 Parâmetros Hematológicos .....	8
3.3 Parâmetros Bioquímicos .....	8
3.3.1 Proteínas totais, albumina e globulinas .....	8
3.3.2 Hiperbilirrubinemia .....	9
3.3.3 Proteínas de fase aguda .....	9
3.4 Urinálise .....	9
3.5 Perfil de coagulação.....	10
3.6 Análise do líquido de derrame.....	10
3.7 Análise do líquido cefalorraquidiano.....	10
3.8 Imagiologia.....	10
3.9 Sorologia.....	11
3.10 Diagnóstico molecular usando PCR em tempo real .....	12
3.11 Imunocitoquímica ou imunohistoquímica para FCoV.....	13
3.12 Histopatologia .....	14
4. Tratamento .....	15
4.1 Anti-inflamatórios, corticosteróides e imunossupressores .....	15
4.2 Fármacos antivirais .....	16
4.2.1 GS-441524.....	16
4.2.2 GC376 .....	16
4.3.3 Interferão ômega e alfa .....	17
4.3.4 Itraconazol .....	18
4.3.5 Ciclosporina A.....	18

4.4 Tratamento imune de suporte para a forma exsudativa e não exsudativa .....	18
5. Prognóstico e Monitorização do tratamento .....	18
6. Material e Métodos .....	19
6.1 Métodos .....	19
6.1.1 Recolha e análise de dados .....	19
6.1.2 Métodos de diagnóstico .....	19
6.1.3 Exame físico .....	20
7. Resultados .....	22
7.1 Diagnóstico definitivo .....	22
7.2 Caracterização da população de gatos diagnosticados laboratorialmente com PIF .....	22
7.2.1 Idade .....	22
7.2.2 Raça .....	23
7.2.3 Origem .....	23
7.2.4 Estilo de vida .....	24
7.2.5 Número de gatos na mesma casa .....	24
7.2.6 Consultas de referência .....	25
7.2.7 Formas clínicas de PIF .....	25
7.2.8 Sinais clínicos .....	26
7.2.9 Doenças concomitantes .....	26
7.2.10 Duração da hospitalização .....	27
7.2.11 Desfecho infeto contagioso .....	27
7.2.12 Seguimento .....	28
7.3 Análise do líquido de derrame .....	29
7.4 Hemograma .....	30
7.5 Análises bioquímicas .....	31
7.6 Distribuição de casos .....	32
7.7 Dados estatísticos sobre os fatores de risco de PIF .....	32
7.8 Sobrevivência .....	33
8. Discussão .....	34
8.1 Caracterização da população estudada .....	35
8.2 Análise do líquido de derrame .....	38
8.3 Achados hematológicos e bioquímicos .....	39
8.4 Distribuição temporal .....	40
8.5 Fatores de risco .....	40
8.6 Sobrevivência .....	41
9. O futuro do tratamento da PIF .....	42
10. Conclusões .....	43
11. Bibliografia .....	45

## Índice de figuras

Figura 1 - Gato com forma exsudativa de PIF com distensão abdominal devido a derrame peritoneal (Drechsler et al. 2011) .....	6
Figura 2 - Precipitados queráticos num gato de 5 anos com PIF (Sykes 2013).....	6
Figura 3 - Rim com lesões pio granulomatosas. Imagem cedida pela Doutora Inês Machado (UIDI) .....	21
Figura 4 - Rim com lesões pio granulomatosas. Imagem cedida pela Doutora Inês Machado (UIDI) .....	21
Figura 5 - Gato com PIF com condição corporal diminuída e prostração. Imagens cedidas pela Doutora Inês Machado da UIDI .....	21
Figura 6 - Gato com PIF com desidratação marcada. Imagens cedidas pela Doutora Inês Machado da UIDI .....	21
Figura 7 - Fluxograma de diagnóstico definitivo de gatos com PIF, baseado no esquema da IDEXX (2015).....	44

## Índice de gráficos

Gráfico 1 - Métodos de diagnóstico definitivos dos casos PIF dos gatos hospitalizados na UIDI (n=18) .....	22
Gráfico 2 - Idade dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18) .....	23
Gráfico 3- Frequência de raças dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18) .....	23
Gráfico 4- Origem dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18).....	24
Gráfico 5 -Estilo de vida dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18) .....	24
Gráfico 6 - Número total de gatos com que habitam os felídeos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18) .....	25
Gráfico 7- Classificação do tipo de hospitalização na UIDI dos gatos com PIF (n=18) .....	25
Gráfico 8 - Formas clínicas dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18) .....	26
Gráfico 9- Sinais clínicos dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI .....	26
Gráfico 10 - Doenças concomitantes nos gatos hospitalizados na UIDI (n=18).....	27
Gráfico 11 - Duração do internamento dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=20) ..	27
Gráfico 12 - Desfecho infeto contagioso dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)	28
Gráfico 13 - Seguimento dos gatos com PIF que tiveram alta da hospitalização na UIDI (n=9) .....	28
Gráfico 14 - Distribuição temporal dos casos de PIF nos gatos hospitalizados na UIDI (n=18) .....	32
Gráfico 15 - Função de sobrevivência com recurso a uma curva de Kaplan-Meier, que relaciona a probabilidade de um gato com PIF se encontrar vivo depois do diagnóstico e o número de dias entre o diagnóstico definitivo e a sua morte ou último seguimento, com uma confiança de 95%(representado por ----).....	34

## Índice de tabelas

Tabela 1- Análise do líquido de derrame de 8 gatos com PIF hospitalizados na UIDI .....	29
Tabela 2 – Análise dos rácios albumina:globulinas ou albumina:proteína total e valor de proteína total no sangue dos gatos hospitalizados na UIDI que não realizaram análise de líquido de derrame (n=10).....	30
Tabela 3 - Comparação dos achados hematológicos com valores de referência do Laboratório de Análises Clínicas FMV-UL.....	30

Tabela 4 - Comparação dos achados bioquímicos com valores de referência do Laboratório de Análises Clínicas FMV-UL.....	31
Tabela 5 - Dados estatísticos dos fatores de risco para PIF dos gatos hospitalizados na UIDI com PIF (n=18) .....	33

## **Lista de abreviaturas e siglas**

AGP – alfa 1- glicoproteína

AHIM – anemia hemolítica imuno mediada

BCEF – biótopo do coronavírus entérico felino

BVPIF – biótopo do vírus da peritonite infecciosa felina

CAMV – Centro de atendimento Médico-veterinário

FCoV - coronavírus felino

CHCM – concentração da hemoglobina corpuscular média

DTRSF – doença do trato respiratório superior felino

FeLV – vírus da leucemia felina

FIP - feline infectious peritonitis

FIV - vírus da imunodeficiência felina

fDC-SGN feline dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule grabbing non-integrin receptor

FMV-UL - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

HEV- Hospital Escolar Veterinário

IC – intervalo de confiança

IDEXX - IDEXX Laboratories, Inc.

IFN- $\gamma$  – interferon gama

LVI-FMV-UL – Laboratório de Virologia e Imunologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

Kb -kilobyte

kDa – kilodalton

MV – médico veterinário

NaCl – cloreto de sódio

PIF – peritonite infecciosa felina

RNA – ácido ribonucleico

TNF- $\alpha$  – fator de necrose tumoral alfa

UI – unidades internacionais

UIDI- Unidade de Isolamento de Doenças Infetivas

VCM – volume corpuscular médio

$\chi^2$  – qui-quadrado



## **Estágio curricular**

O estágio curricular decorreu na Unidade de Isolamento de Doenças Infeciosas (UIDI) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL), entre 4 de fevereiro de 2019 e 31 de maio de 2019, sob a orientação da Professora Doutora Solange Gil Neves, com uma carga horária total de 638 horas.

Na UIDI é necessário o cumprimento de regras obrigatórias de biossegurança. Estas incluem o uso de equipamento de proteção individual descartável, bata, touca, luvas, proteção de calçado e máscara cirúrgica, que é colocado antes do contacto individual com cada paciente. No caso de doenças zoonóticas, como leptospirose, são ainda usados óculos de proteção e fatos macaco descartáveis.

À entrada e à saída da unidade de isolamento, entre pacientes e após contacto com pacientes é obrigatório a limpeza e desinfeção das mãos. Após a manipulação de um animal é obrigatório a limpeza e desinfeção de todo o material usado (estetoscópio, termómetro, bancadas, tijelas de comida, etc). As salas e jaulas dos animais são sujeitas a limpeza, desinfeção e períodos de quarentena previamente estipulados consoante o agente infeccioso por último presente.

Como estagiária tive oportunidade de assistir a consultas de referência, consultas de vacinação de animais que tinham estado posteriormente na UIDI. Assisti ainda à colocação de um tubo de alimentação esofágico, procedimento cirúrgico levado a cabo pela Dra. Ana Reisinho.

Durante o estágio tinha a responsabilidade, de acordo com as indicações presentes no programa de gestão de internamento – *Pet Universal Hopi* - realizar a monitorização dos pacientes, incluindo o exame físico geral, a medição de glicémia e pressão arterial. Realizar a administração de medicação, por via oral, subcutânea, endovenosa, ocular e intramuscular, assim como a prestação de cuidados de higiene e alimentação.

O estágio permitiu a consolidação de conhecimentos, desenvolvimento do raciocínio clínico, autonomia, trabalho em grupo e apresentação e discussão de casos clínicos entre colegas.

## **1. Coronavírus felino**

O coronavírus felino (FCoV) é o maior vírus RNA, com um genoma de 29kb, é um alfacoronavírus da família Coronaviridae, género Coronavirus. É esférico, com envelope e de cadeia simples RNA sentido positivo (Sykes and Greene 2011; Sykes 2013).

O FCoV é um vírus entérico e ubiquitário dos gatos, que em casos pontuais desenvolvem uma doença chamada Peritonite Infeciosa Felina (PIF). Esta não ocorre em humanos, mas afeta felinos selvagens, principalmente a chita (Sykes and Greene 2011; Sykes 2013). A PIF é caracterizada por uma vasculite sistémica piogranulomatosa imunomediada, fatal, com líquido de derrame e linfopénia marcada (Sykes 2013).

O coronavírus pode ser classificado em, pelo menos 4 grupos. O vírus felino pertence ao grupo 1, juntamente com o coronavírus canino, porcino, do coelho e do furão. O coronavírus humano, responsável pela síndrome respiratória aguda grave, pertence a um grupo distinto (Drechsler et al. 2011).

A estirpe 79-1146 é uma das mais virulentas, capaz de causar o desenvolvimento da PIF na maioria dos gatos infetados. Nas infeções por estirpes menos virulentas a capacidade do vírus se replicar em monócitos e macrófagos varia, bem como o desenvolvimento de PIF (Sykes and Greene 2011). A diversidade genética presente no FCoV, originada pelos erros de replicação associados aos vírus RNA, contribui para a patogénese e variabilidade genética encontrada num mesmo indivíduo, em diferentes tecidos e inclusive em diferentes células de um piogranuloma (Sykes and Greene 2011; Kipar and Meli 2014).

A proteína S forma o envelope do vírus, que apresenta um papel importante na indução de anticorpos e resposta mediada por células no hospedeiro. Por ser um péptido essencial na fusão viral na membrana celular e aquando da entrada do vírus na célula pode alterar o tropismo do vírus para monócitos e macrófagos, para a infeção sistémica (Kipar and Meli 2014; Porter et al. 2014). Esta divide-se em duas, a S1 é a exterior e a principal proteína do vírus responsável pela formação de anticorpos neutralizantes e determinar o serotipo, a S2 segura a proteína no envelope derivado da célula (Drechsler et al. 2011).

Está descrita a substituição da metionina por leucina na posição 1058 e a substituição de uma serina por alanina na posição 1060 do mesmo péptido, podendo alterar o tropismo do FCoV para o desenvolvimento de PIF. O gene 3c é crítico no processo de replicação viral no trato gastro intestinal, pelo que uma mutação pode-lhe conferir a capacidade de replicação sistémica (Porter et al. 2014). A região 3c intacta está associada ao biótopo do coronavírus entérico felino (BCEF), enquanto que mutações nesta região verificam-se no biótopo do vírus da peritonite infecciosa felina (BVPIF) (Drechsler et al. 2011).

Dentro do FCoV existem dois serotipos, o tipo I e o tipo II, com uma manifestação clínica idêntica, mas possuem diferentes recetores para entrada nas células (Sykes 2013).

Ao contrário do tipo I e idêntico aos coronavírus do grupo 1, o tipo II usa a aminopeptidase-N como recetor específico para entrada nas células (Drechsler et al. 2011).

O serotipo tipo I tem estirpes predominantes em todo o mundo. Por outro lado, o tipo II é o mais estudado, por ser mais fácil de replicar em culturas de células *in vitro* e resulta da recombinação genética de estirpes de coronavírus entérico canino com o FCoV serotipo tipo I, exibindo a proteína S semelhante à do coronavírus entérico canino (Sykes 2013; Kipar and Meli 2014).

Ambos os serotipos podem causar PIF e estudos revelam que o serotipo tipo I está presente em 98% dos animais seropositivos. Está também demonstrada que este serotipo induz um maior título de anticorpos que o tipo II e está mais associado a sinais clínicos e/ou PIF. No entanto, o serotipo tipo II também é capaz de causar PIF havendo por vezes infeção conjunta com o tipo I (Kipar and Meli 2014).

O BCEF é ubiqüitário, infetando o trato gastrointestinal dos gatos e geralmente não causa doença. Contudo o BVPIF é responsável por uma doença sistémica e fatal. Ambos os biótopos, estão presentes nos serotipos I e II do FCoV (Drechsler et al. 2011).

Inicialmente pensava-se que as infeções assintomáticas por FCoV estavam restritas ao trato gastrointestinal, mas foi demonstrada infeção sistémica em gatos saudáveis infetados, apesar de a carga viral ser inferior à dos gatos que desenvolvem PIF (Kipar et al. 2006; Desmarets et al. 2016). Foi demonstrado que o coronavírus entérico felino também possui a capacidade de infetar monócitos, sendo a infeção sistémica associada a monócitos e macrófagos a partir da infeção inicial do intestino (Kipar and Meli 2014). A enterite viral a FCoV é um dos resultados mais frequentes da infeção pelo vírus. Passa muitas vezes despercebida por apresentar sinais clínicos pouco específicos, anorexia, perda de peso e ou diarreia, podendo ainda ser assintomática (Desmarets et al. 2016).

Existem duas teorias para tentar explicar o facto de o FCoV desenvolver PIF em apenas 5 a 10% dos casos (Sykes 2013). Uma teoria refere a existência simultânea de uma estirpe virulenta e avirulenta em circulação no gato. A outra teoria refere ocorrência de uma mutação na estirpe avirulenta com indução de virulência. Há quem defenda que ambas as teorias possam coexistir. Ambas as estirpes, virulenta e avirulenta, podem ser encontradas em animais saudáveis e em animais que desenvolveram PIF, contudo uma será predominante (Sykes and Greene 2011; Sykes 2013).

Estirpes pouco patogénicas podem não dar origem a sinais clínicos ou induzir apenas sinais gastrointestinais ligeiros. No entanto, é possível surgirem, sinais agudos ou crónicos, como diarreia persistente ou intermitente e ocasionalmente vômito e inapetência. Uma baixa carga viral de uma estirpe virulenta pode não levar ao desenvolvimento de PIF, por não conseguir fazer a replicação viral nos macrófagos e monócitos (Sykes 2013).

A frequência de infecção por FCoV em gatos varia entre 40% a 90%. Cerca de 13% destes gatos são portadores, 70% apresenta infecção transitória e apenas 5 a 10% resistem à infecção pelo FCoV (Sykes and Greene 2011; Tasker 2018).

O tamanho do genoma do coronavírus dificulta a identificação de uma mutação que pode ser determinante na atribuição da virulência (Drechsler et al. 2011). Está documentada a presença do FCoV que sofreu mutação no gene 3c nas fezes de gatos com PIF, que vem desafiar a convicção de que apenas a forma entérica do FCoV, ou seja, as formas incapazes de desenvolver PIF têm a capacidade de se replicarem no trato gastrointestinal e consequentemente vem sugerir a possibilidade de que a PIF se possa transmitir de gato para gato (Sykes and Greene 2011; Tasker 2018).

A ocorrência ou não de PIF envolve suscetibilidade genética, idade no momento de exposição e um número variável de fatores de stress que poderão surgir ao mesmo tempo do que a infecção e que poderão ter um impacto negativo na capacidade do gato infetado para eliminar o vírus (Pedersen 2014). O período de incubação é variável, sendo os gatinhos suscetíveis a partir das 4 a 8 semanas de idade, tendo sido reportado um caso às 2 semanas. Normalmente o vírus é excretado até uma semana após infecção, exceto os casos de excreção contínua. Após a infecção a doença demora 6 a 18 meses a desenvolver-se (Sykes 2013; Tasker 2018).

Está estudado que o cólon é o local de maior persistência do biótopo BCEF, sendo uma fonte provável de eliminação do vírus. Os gatos conseguem eliminar a infecção dentro de 6 a 8 meses, se não ocorrer reinfeção (Drechsler et al. 2011).

Não se sabe ao certo como atua o vírus, uma vez que este tem apenas capacidade para infetar monócitos e macrófagos, no entanto, responsável pela inibição das células T, com depleção das células CD4+ e CD8+. É responsável pela estimulação da produção de TNF- $\alpha$ , fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos, fator estimulador de colónias de granulócitos, IFN- $\gamma$  e hipergamagobulinémia (Sykes 2013). Os monócitos com o vírus expressam fatores tumorais como TNF- $\alpha$  e interleucinas IL-1 $\beta$  moléculas de adesão, como a CD18, que permitem que haja interação com as células endoteliais e enzimas como a matriz metaloproteinase-9 com a capacidade de dissolver a membrana vascular nos locais de ligação aos monócitos. A análise do líquido de derrame indica níveis elevados de TNF- $\alpha$ , GM-CSF, granulócitos, IL-6 e outros fatores de diferenciação celular das células B demonstrando a ativação generalizada dos monócitos em macrófagos (Kipar and Meli 2014).

Independentemente do desenvolvimento ou não de PIF, o organismo do hospedeiro inicia uma resposta imunitária humoral, evidenciada pela produção de anticorpos específicos para FCoV tanto no plasma como nos tecidos linfóides e formação de folículos secundários, nos tecidos linfóides. As citocinas produzidas pelos monócitos infetados induzem a ativação

de macrófagos e percursores hemolinfáticos, afetando assim as células T e B e afetando as respostas imunitárias celulares e humorais do hospedeiro (Kipar and Meli 2014).

Uma resposta imunitária eficaz em conjunto com a limitação da atividade dos macrófagos mediada por IL-10 e aumento de células citotóxicas permite aos gatos infectados limitarem a infecção viral, permanecendo saudáveis (Kipar and Meli 2014).

Por outro lado, a não produção da citocina IL-12 reduz a capacidade de uma resposta imunitária adequada com consequente desenvolvimento da PIF, provavelmente como consequência de ativação de macrófagos mediada por células T (Kipar and Meli 2014).

A libertação das citocinas por monócitos ativados infectados é apenas indicativo de uma infecção sistêmica. Porque apesar de existir uma quantidade abundante de macrófagos, não significa que as citocinas induzam a proliferação destas células (Kipar and Meli 2014).

Gatos com PIF não conseguem montar uma resposta imunitária eficaz para combater o vírus, ao invés há uma atividade reduzida das células citotóxicas e redução das células T reguladoras, que se traduz na diminuição da capacidade do animal em inibir os processos inflamatórios (Kipar and Meli 2014).

Pensa-se que os sinais clínicos de PIF sejam decorrentes de um mecanismo imunopatogénico de hipersensibilidade do tipo III, no entanto, os complexos imunes específicos para FCoV são também detetados, ainda que transitoriamente, em gatos infectados que permanecem saudáveis. Além disto a vasculite encontrada na PIF não apresenta características como o envolvimento de artérias e predominância de neutrófilos, característico da vasculite por imunocomplexos. Por outro lado coloca-se a hipótese do envolvimento de um mecanismo imunopatogénico de hipersensibilidade do tipo IV, devido à existência de lesões granulomatosas como consequência da resposta celular CD4+, nas lesões dominadas por macrófagos (Kipar and Meli 2014). A hipersensibilidade do tipo IV corresponde assim a uma reação retardada como consequência da estimulação excessiva de células T e macrófagos. As respostas de hipersensibilidade podem ser secundárias à ativação dos monócitos, devido ao desenvolvimento da vasculite (Drechsler et al. 2011).

A resposta humoral numa infecção por FCoV em que se desenvolve uma infecção sistêmica não é eficaz, podendo acelerar o curso da doença. Os anticorpos produzidos contra a proteína S, em títulos subneutralizantes, opsonizam o vírus e aumentam a infecção de células alvo (de Groot-Mijnes et al. 2005). O controlo da infecção e eliminação do vírus mutado é conseguido pela imunidade celular. No entanto, por mecanismos ainda desconhecidos na PIF existe uma depleção das células T CD8+ e T CD4+, ou seja, da imunidade celular (de Groot-Mijnes et al. 2005).

Foi detetada uma resposta Th1 específica ao vírus capaz de desenvolver PIF em animais sobreviventes à sua infecção sendo a proteína S o principal antígeno das células T CD8+. Surgiu assim a teoria de que a imunidade celular é neutralizada pela depleção das

células T induzida por vírus e em que a eficácia das respostas iniciais por parte das células T determinam a progressão da doença e o resultado final (de Groot-Mijnes et al. 2005).

Considera-se que os linfonodos mesentéricos são o primeiro local de replicação do FCoV fora do trato gastrointestinal e antes da infeção dos monócitos e macrófagos. Assim os linfonodos mesentéricos representam um local importante na resposta imune do hospedeiro (Malbon et al. 2019).

## **2.Fatores predisponentes e apresentação clínica da PIF**

O coronavírus felino é um vírus com envelope facilmente eliminado por desinfetantes. Sobrevive normalmente um a dois dias a temperatura ambiente e até 7 semanas num ambiente seco (Sykes 2013).

Está descrita a transmissão transplacentária, mas é extremamente rara (Pastoret and Henroteaux 1978). Não está documentado nenhum caso de transmissão de FCoV por transfusão sanguínea. A transmissão dá-se por via fecal-oral e as caixas de areia são as principais fontes de contágio. Assim, ambientes como abrigos e gatis, com maior número e densidade de gatos podem estar associadas a uma maior sero-prevalência. A PIF pode ocorrer em semanas e até um ano após a infeção (Sykes 2013). O período de tempo num ambiente com grande número e densidade de gatos aumenta o risco de exposição ao vírus, estimando-se ser 5 vezes superior para gatos que vivem em abrigos por mais de 60 dias. Dependendo da densidade da população, da duração da estadia, práticas de criação e habitação, a prevalência da doença em ambientes com vários gatos pode atingir os 0,6% a 0,8% (Drechsler et al. 2011).

Está demonstrado que gatos de rua ou de interior, mas com acesso ao exterior terão uma probabilidade duas vezes superior de serem seropositivos do que gatos de interior (Bell et al. 2006). Os gatos errantes ou de colónias apresentam uma menor seropositividade quando comparando com gatos de interior, provavelmente devido à menor densidade populacional e por enterrarem as suas fezes ao ar livre resulta em menor exposição a material fecal contaminado em comparação com os gatos de interior (Drechsler et al. 2011).

Gatos entre os 3 meses e os 3 anos e com mais de 10 anos, encontram-se predispostos ao desenvolvimento de PIF. As raças puras parecem ser mais suscetíveis, tais como o Abissínio, Bengal, Birmanês, Mist Australiano, Gato de pelo curto inglês, Himalaio, Ragdoll, Rex e o Scottish fold. Gatos inteiros, do género masculino e gatos que habitem em ambientes com mais de 6 gatos também apresentam maior predisposição para desenvolvimento de PIF (Sykes 2013; Riemer et al. 2016).

Fatores de stress que representam uma agressão ao sistema imunitário predis põem para PIF, como, infeções virais, stress devido a transportes, vacinação, adoção, esterilização e sobrepopulação, introdução de novos animais no ambiente (Sykes 2013). Gatos com FeLV

ou FIV estão mais suscetíveis ao desenvolvimento de PIF quando expostos a FCoV. Uma infecção crônica por FIV pode aumentar a evolução e seleção de mutantes do BVPIF, porque há aumento da replicação do BCEF no trato digestivo e os animais têm menos defesas imunitárias para se defender das mutações que possam ocorrer (Drechsler et al. 2011).

Em relação às apresentações clínicas, a PIF poderá ser exsudativa e não exsudativa, dependendo da forma como o sistema imunitário do hospedeiro responde à replicação viral do FCoV nos macrófagos. A forma exsudativa é responsável por 80% dos casos de PIF. No entanto, não é incomum haver uma combinação das duas formas (Sykes 2013).

A forma não exsudativa ou “seca” é caracterizada pela formação de piogranulomas inflamatórios em vários órgãos do organismo, devido a uma resposta imunitária parcialmente mediada por células. Os órgãos mais afetados são os rins, linfonodos mesentéricos, pulmões, fígado, cérebro, olho e a parede gastrointestinal, principalmente na junção íleo-ceco-cólica (Sykes 2013).

A forma exsudativa ou “húmida” é caracterizada por um sistema imunitário incapaz de montar uma resposta imunitária eficaz. Com a produção de fatores de crescimento endotelial vascular pelos monócitos infetados e por consequente aumento da permeabilidade vascular há uma acumulação de líquido de derrame rico em proteína, no abdômen ou tórax (Sykes 2013).



**Figura 1 - Gato com forma exsudativa de PIF com distensão abdominal devido a derrame peritoneal (Drechsler et al. 2011)**



**Figura 2 - Precipitados queráticos num gato de 5 anos com PIF (Sykes 2013)**

A forma exsudativa é mais aguda do que a não exsudativa, ocorrendo num período de 4 a 6 semanas após um evento stressante. A forma exsudativa com derrame torácico é menos aguda do que a com derrame abdominal, podendo em alguns casos os gatos sobreviver várias semanas ou meses (Addie et al. 2009).

Os sinais clínicos de PIF variam com o tempo e dependem dos órgãos afetados e da predominância da manifestação inflamatória ou exsudativa. Os sinais clínicos comuns a ambas as formas incluem letargia, anorexia, perda de peso ou incapacidade de ganhar peso

ou paragem no crescimento em gatos jovens. A hipertermia não é responsiva a antibióticos, anti-inflamatórios não esteroides e por vezes há icterícia, mais comum na forma exsudativa (Tasker 2018). Contudo, muitos gatos apresentam-se ativos e com boa condição corporal nos estádios iniciais da doença. Alguns gatos apresentam aumento da frequência urinária devido à hipertermia e acabam por apresentar perda de condição corporal com o avançar da doença. Cerca de 10% dos derrames pericárdicos em gatos são causados por PIF, a terceira causa mais comum de derrame pericárdico depois de cardiomiopatia e neoplasia (Figura 1). Os sinais neurológicos, ocorrem em pelo menos 10% dos gatos com PIF e as causas primárias são meningoencefalite, meningiomielite, ependimite, coroidite e hidrocefalia obstrutiva (Sykes 2013).

Os sinais clínicos típicos da PIF exsudativa incluem distensão abdominal devido a derrame abdominal, derrame pleural, responsável por dispneia e taquicardia, derrame pericárdico e tumefação escrotal também podem estar presentes. Na forma não exsudativa há sinais clínicos neurológicos, como ataxia, “head tilt”, mudanças comportamentais, nistagmus, hiperestesia. Podem ocorrer também sinais oculares, como descoloração da íris, edema corneal, anisocoria ou discoria, perda de visão, hifema, hipópion, precipitados queráticos, flare aquosa, anel perivascular, coriorretinite e acumulação de líquido causando descolamento da retina (Figura 2). E menos comum, pápulas e nódulos não pruriginosos na pele (Tasker 2018).

### **2.1 Exames *pós-mortem***

Ao exame *pós-mortem* estão documentadas lesões granulomatosas em órgãos ou placas fibrinosas na serosa de órgãos como o fígado, o omento em conjunto com os linfonodos mesentéricos e no diafragma e parede abdominal. Podem-se observar lesões granulomatosas nos rins, parede intestinal, nos pulmões, linfonodos, fígado e baço. Na forma exsudativa, há um líquido de derrame amarelado na cavidade abdominal, peritoneal e por vezes no pericárdio (Tasker 2018). Na forma seca o derrame é mínimo ou inexistente, e a reação infamatória, caracterizada por uma reação piogranulomatosa ou granulomatosa perivascular com ou sem vasculite, pode estar restrita a órgãos individuais como os rins, olhos ou cérebro (Drechsler et al. 2011).

### **3. Diagnóstico**

O diagnóstico definitivo de PIF baseia-se num exame histopatológico de tecidos com deteção do antígeno de FCoV por imuno-histoquímica das lesões. A deteção de antígeno em amostras de líquido de derrame também é uma opção de diagnóstico definitivo, nos casos com derrames, com alterações hematológicas e análise citológica consistentes com PIF (Tasker 2018).



A seleção apropriada de amostras para o teste deve ser baseada nos sinais clínicos, como a presença de derrame, sinais oculares ou neurológicos, exames imagiológicos e citológicos. Sendo preferível, especialmente em animais doentes, optar por métodos não invasivos (Tasker 2018). Em gatos de abrigo, proprietários com poucas possibilidades financeiras ou animal muito debilitado e não há garantia de que conseguirá tolerar procedimentos invasivos (por exemplo, biopsia) a eutanásia é uma alternativa ao diagnóstico *ante-mortem*. Devendo realizar-se necrópsia apenas para procurar lesões consistentes com PIF e recolher material para histopatologia (Tasker 2018).

### **3.1 Diagnósticos diferenciais**

A PIF tem como principais diagnósticos diferenciais: toxoplasmose, colangite linfocítica, neoplasia, pancreatite, infecção por retrovírus, infecção por micobactérias, piotórax, sépsis, peritonite séptica, insuficiência cardíaca congestiva e raiva (Tasker 2018).

### **3.2 Parâmetros Hematológicos**

Alterações no hemograma são inespecíficas para PIF. No entanto, a linfopenia é um dos sinais mais comuns, ocorrendo em 50% a 77% dos casos. A neutrofilia ocorre em 39% a 57% dos casos e em alguns observa-se desvio à esquerda com presença de neutrófilos tóxicos. Em 37% a 54% está presente uma anemia normocítica e normocrômica ligeira a moderada não regenerativa (Sykes 2013; Tasker 2018). Está descrito em alguns a presença de microcitose, associada ou não a anemia (Tasker 2018). Menos comum é a presença de anemia hemolítica imunomediada grave (Tasker 2018). Pode ocorrer trombocitose, mas a trombocitopenia é mais comum, como reflexo de coagulação intravascular disseminada ou por destruição plaquetária imunomediada (Sykes 2013).

### **3.3 Parâmetros Bioquímicos**

#### **3.3.1 Proteínas totais, albumina e globulinas**

Está descrita a presença de hiperglobulinémia, em cerca de 89% dos casos, juntamente com hipoalbuminémia ou uma albumina sérica baixa a normal, em 64,5% dos casos (Tasker 2018). Um estudo descreve que a hiperglobulinémia está presente em 50% dos casos com derrame e 70% dos casos sem derrame (Sykes 2013).

A hiperproteinémia, >8.0 mg/dL, está presente em cerca de 60% dos casos de PIF e deve-se a uma elevada concentração de globulinas séricas, devido à resposta anticorpo específica, presença de complemento e imunocomplexos na corrente sanguínea (Drechsler et al. 2011).

O rácio albumina/globulina é usado na avaliação individual da probabilidade de um paciente ter PIF. Este está baixo quando há hiperglobulinémia e hipoalbuminémia ou uma

albumina sérica baixa a normal. Valores de rácio A:G inferior a 0,4 são fortes indicadores de PIF, sendo que rácios superiores a 0,8 tornam o diagnóstico de PIF muito improvável (Tasker 2018). Na fase terminal da doença a concentração das globulinas pode estar muito diminuída, pelo que os gatos nesta fase apresentam uma concentração de proteínas totais dentro dos valores de referência. A hipoglobulinémia está presente aquando do envolvimento hepático, alterações da permeabilidade dos vasos, perdas urinárias por glomerulonefrite ou devido a inflamação, pois a albumina trata-se de uma proteína negativa de fase águia (Sykes 2013).

Estão descritas elevações poli e monoclonais de gamaglobulinas, sendo as primeiras mais comuns. Estudos mais recentes indicam uma elevação das alfa-globulinas, especialmente quando o diagnóstico é realizado mais cedo, ou seja, em casos em que ainda não existiu progressão para a fase de elevação de gamaglobulinas (Tasker 2018).

### **3.3.2 Hiperbilirrubinemia**

A hiperbilirrubinémia, sem aumento de enzimas hepáticas ou anemia grave é sugestivo de PIF. A hiperbilirrubinémia ocorre em cerca de 21% a 63% dos casos de PIF, principalmente na PIF exsudativa. Como consequência de anemia hemolítica imunomediada é pouco frequente (Tasker 2018). Pode-se observar ainda, hiponatrémia, hipocalémia, hipoclorémia, azotémia, aumento das enzimas hepáticas e hipocolesterolémia (Sykes 2013).

### **3.3.3 Proteínas de fase aguda**

As proteínas de fase aguda são uma classe de proteínas cuja concentração plasmática aumenta ou diminui em resposta a citocinas libertadas por monócitos e macrófagos. A alfa 1- glicoproteína (AGP) é a proteína de fase aguda utilizada para avaliar a presença da doença. Apenas valores muito elevados, acima de 1,5mg/mL no plasma ou em efusões são sugestivos de diagnóstico de PIF. Deve-se ter em consideração os fatores clínicos e de risco aquando da interpretação do valor da alfa 1 glicoproteína, pois outras doenças inflamatórias também levam ao aumento desta proteína (Drechsler et al. 2011).

Apesar da medição de concentrações de AGP em líquidos de derrame ser mais sensível e específico para a diferenciação de casos de PIF do que a sua medição no sangue ou de outras proteínas de fase aguda, não providencia um diagnóstico definitivo (Drechsler et al. 2011; Tasker 2018).

## **3.4 Urianálise**

A urianálise de gatos com PIF pode ou não revelar proteinúria devido a afeções glomerulares ou tubulares. Piúria e cilindrúria podem estar presentes, mas hematúria é menos comum. A bilirrubinúria pode ser detetada em gatos com lesão hepática (Sykes 2013).

### **3.5 Perfil de coagulação**

O tempo de protrombina e o tempo parcial de protrombina podem estar alterados como resultado de uma lesão hepática (Sykes 2013).

### **3.6 Análise do líquido de derrame**

O derrame abdominal ou pleural, presente na PIF húmida tem uma aparência viscosa e cor de palha, vermelha, cor de rosa ou quilosa (Drechsler et al. 2011; Tasker 2018).

O líquido de derrame é caracterizado como de natureza não séptica em exsudado piogranulomatoso ou transudado modificado. A citologia revela uma baixa contagem celular, inferior a  $5 \times 10^3$  células/L, com neutrófilos e macrófagos, e alta concentração proteica, superior a 3,5 g/dl (Drechsler et al. 2011).

O teste de Rivalta pode ser utilizado para caracterizar o teor em proteína do líquido a analisar. Para a realização do teste de Rivalta é necessário misturar uma gota de ácido acético a 98% a 7 ou 8 mL de água destilada, num tubo transparente com 10mL de capacidade. Posteriormente adiciona-se uma gota do líquido de derrame à mistura do tubo e se, se dissipar na solução o teste é negativo (pouca proteína). Se a gota mantiver a forma, se se mantiver à superfície ou se afunda lentamente, o teste é positivo para elevadas concentrações de proteína. Sendo assim suspeito para o diagnóstico de PIF (Sykes 2013).

Um resultado positivo não é específico de PIF, significa apenas que o líquido de derrame apresenta um teor proteico muito elevado (Tasker 2018).

### **3.7 Análise do líquido cérebroespinal**

O líquido cérebro espinhal, a colher em animais com sinais neurológicos, é de conteúdo proteico elevado, de 30mg/dL a 1000 mg/dL e com aumento da contagem de células, 20 a 10,000 células/ $\mu$ L, com predominância de neutrófilos. No entanto, em alguns gatos o conteúdo proteico e a contagem dos leucócitos pode encontrar-se normal, não sendo possível excluir o diagnóstico de PIF (Sykes 2013).

### **3.8 Imagiologia**

Radiografia torácica pode revelar derrame pleural, aumento da silhueta cardíaca em gatos com derrame pericárdico e nódulos pulmonares ou infiltrados peribrônquicos em gatos com pneumonia piogranulomatosa. A radiografia abdominal pode apresentar perda de detalhe peritoneal ou retroperitoneal como consequência do derrame peritoneal. Pode ser identificada hepatomegália, renomegália, esplenomegália, espessamento difuso e/ ou lesões granulomatosas no trato gastro intestinal e hiperplasia dos linfonodos mesentéricos (Sykes 2013).

À ecografia abdominal o líquido de derrame peritoneal apresenta-se anecogénico ou ligeiramente ecogénico, o mesentério pode apresentar-se hiperecogénico e os linfonodos abdominais podem surgir aumentados e hiperecogénicos. É identificada hipoecogenecidade focal ou difusa do fígado e baço, assim como o seu aumento. Pode-se registar assimetria renal com aumento da ecogenecidade cortical, nódulos hipoecogénicos, líquido subcapsular ou perda de distinção córtico-medular. Pode ainda estar presente espessamento das camadas da parede intestinal ou lesões. Através do diafragma pode-se observar derrame pleural ou artefactos (Sykes 2013).

Segundo o estudo de Lewis e O'Brien (2010) os líquidos de derrame são maioritariamente anecogénicos, existindo alguns com ligeira ecogenecidade. A variação na ecogenecidade dos líquidos deve-se à celularidade, aos ecógrafos utilizados e aos critérios de determinação do médico veterinário (MV). A renomegalia foi um achado frequente neste estudo e a ecogenecidade cortical varia entre normal, hiperecogénico e hipoecogénico. Sendo também descrita a presença de aura subcapsular hipoecogénica num ou ambos os rins. Foi documentada linfadenopatia abdominal em 9 dos 16 gatos. O fígado apresentava-se com ecogenecidade normal em 11 gatos e com ecogenecidade alterada (híper ou hipoecogenecidade) nos restantes. O baço era hipoecogénico em dois gatos e de ecogenecidade normal nos restantes.

Uma ecografia ou radiografia normais não excluem o diagnóstico de PIF, pois numa fase inicial podem não ser observadas alterações à ecografia ou radiografia havendo achados específicos na PIF. No entanto, tanto a radiologia como a ultrassonografia podem ser úteis na deteção de achados como os descritos acima. Estes métodos imagiológicos auxiliam na colheita de amostras de tecidos, aspirados por agulha fina e biopsias, posteriormente submetidas a histopatologia (Lewis and O'Brien 2010).

De acordo com a "ABCD FIP guidelines" em gatos com sinais neurológicos de PIF a ressonância magnética pode revelar obstrução do hidrocéfalo, siringomielia, hérnia do forâmen magnum e aumento de contraste das meninges, do terceiro ventrículo, do aqueduto mesencefálico e do tronco cerebral. Alguns gatos mesmo após a administração de contraste e com meningoencefalite, não apresentam alterações na ressonância magnética (Negrin et al. 2009).

### **3.9 Sorologia**

A deteção de anticorpos anti FCoV pode ser feita por neutralização viral, ELISA ou teste de imunofluorescência indireta (Sykes 2013). Para a deteção de anticorpos usam-se células de porco ou gato como substrato e os níveis de anticorpos são medidos realizando-se várias diluições (Tasker 2018). Estão descritas diferenças nos títulos de FCoV em

diferentes raças de gatos e muitas destas diferenças estão relacionadas com a forma como cada raça responde à infeção (Tasker 2018).

Podem ocorrer falsos positivos devido à presença de anticorpos antinucleares, causados por infeções como FIV, doenças autoimunes, vacinação recente ou fármacos, como o tiamazol e metimazol (Drechsler et al. 2011). Uma titulação de anticorpos anti FCoV indica que houve contacto com o coronavírus e que ocorreu seroconversão, que normalmente demora 2 a 3 semanas após o contacto inicial (Tasker 2018). Titulações iguais ou superiores a 400 são compatíveis com PIF (Norris et al. 2005), mas não diagnóstico definitivo, porque gatos que foram expostos a serotipos avirulentos de FCoV ou a outros coronavírus vão ser seropositivos. Portanto o diagnóstico de PIF nunca deve ser baseado somente na presença de sinais inespecíficos ou alterações laboratoriais, como hipertermia e leucocitose e um teste antigénio FCoV positivo (Sykes 2013). Gatos com PIF apresentam na sua maioria titulações de anticorpos mais altas do que os sem PIF, contudo, uma das limitações dos testes sorológicos é não conseguirem distinguir suspeitos de PIF de animais saudáveis. Títulos de anticorpos intermédios não permitem diferenciar um animal saudável de um suspeito de PIF (Tasker 2018).

Gatos numa fase avançada da doença podem ser seronegativos, porque ocorre falha na produção de anticorpos devido a imunossupressão grave ou pelo contrário por formação de imunocomplexos que sequestram o antigénio (Sykes 2013). Também são reportados casos de resultados negativos na forma neurológica da PIF (Tasker 2018).

A deteção de anticorpos anti FCoV também pode ser realizada no líquido cérebroespinal de gatos com sinais neurológicos de PIF. No entanto, o seu valor de diagnóstico é limitado uma vez que gatos com tumores cerebrais também apresentam anticorpos anti FCoV (Drechsler et al. 2011). A presença de anticorpos anti FCoV apenas indica que o gato foi infetado com FCoV e que ocorreu seroconversão (Tasker 2018).

Aproximadamente um terço dos gatos com anticorpos anti FCoV excretam BVPIF nas fezes. Gatos com títulos no máximo de 25 ocasionalmente excretam baixos níveis de BCEF e frequentemente param de excretar quando são isolados de outros gatos. Gatos com títulos de 400 ou mais frequentemente excretam altos níveis de BVPIF e quando isolados alguns conseguem parar de excretar e diminuir o título de anticorpos. Gatos com uma titulação de anticorpos persistentemente alta estão, por norma, constantemente a excretar (Drechsler et al. 2011).

### **3.10 Diagnóstico molecular usando PCR em tempo real**

O PCR em tempo real foi desenvolvido para detetar e quantificar o FCoV, podendo ser utilizada uma grande variedade de amostras como fezes, sangue, derrames, líquido cérebroespinal, material colhido por PAAF, tecido de biopsia, saliva e até humor aquoso

(Drechsler et al. 2011). No entanto, o PCR quantitativo não está desenhado para detetar mutações associadas à virulência.

Após a detecção do RNA inicial FCoV por PCR é possível caracterizar seções genómicas do FCoV presentes numa amostra, em particular no gene da proteína S, usando técnicas moleculares como pirosequenciamento, sequenciação de Sanger ou PCR com sondas de hidrólise específicas para a sequência. Falhas nas técnicas moleculares ocorrem quando há baixos níveis de FCoV numa amostra, poucos locais alvo de sequenciação, ou se a sequência alvo do FCoV não é correspondente à sequência que o método utiliza para detecção de uma mutação ou mais. A caracterização de sequências é extremamente útil pois existindo mutações específicas de PIF, a sua detecção confirma o diagnóstico de PIF (Tasker 2018).

Dois estudos identificaram mutações específicas no gene S em correlação com a PIF. Estas mutações foram identificadas comparando sequências de RNA FCoV em tecidos de gatos com PIF com o RNA FCoV encontrado em fezes de gatos saudáveis sem PIF (Chang et al. 2012; Licitra et al. 2013). Colocando-se a hipótese de que as mutações detetadas refletem a capacidade do FCoV se tornar sistémico. Ou seja, pensa-se que estas mutações podem refletir o tropismo celular do FCoV para os monócitos e macrófagos ou FCoV associado ao epitélio intestinal, em vez de serem específicas para a PIF, sabendo que os gatos sem PIF podem ter infeção sistémica por FCoV (Tasker 2018).

### **3.11 Imunocitoquímica ou imunohistoquímica para FCoV**

A imunocitoquímica ou a imunohistoquímica foram consideradas durante vários anos, o teste de eleição para PIF. O Ag FCoV pode ser detetado em macrófagos por imunocitoquímica ou imunohistoquímica (Sykes 2013). A imunocoloração é realizada em tecidos fixados em formaldeído utilizando imunohistoquímica ou em amostras citológicas (efusões, aspirados de tecidos) utilizando imunocitoquímica ou imunofluorescência. Estas técnicas exploram a ligação de Ac a Ag FCoV associados a células, que são previamente visualizados por reações enzimáticas que provocam uma mudança de cor ou por fluorescência (Tasker 2018).

Um resultado positivo na imunocoloração de Ag FCoV de tecidos confirma o diagnóstico de PIF, mas um resultado negativo não o exclui, pois, a distribuição dos antígenos nas lesões varia, não sendo detetados em todas as secções histopatológicas preparadas a partir de lesões de casos de PIF. A solução passa por usar múltiplas amostras e/ou amostras maiores com doença confirmada ou ainda solicitar secções adicionais de biopsias ao laboratório de anatomia patológica (Tasker 2018).

A imunocoloração de amostras de líquido de derrame apresenta uma sensibilidade que varia entre os 57% e os 100%. Devido ao facto de a imunocoloração depender da

coloração do antígeno do FCoV nos macrófagos, as efusões serem geralmente pobres em células e por isso o antígeno é mascarado por anticorpos FCoV no líquido de derrame, pode-se obter um resultado falso negativo (Tasker 2018).

A imunocoloração é muito específica, mas estudos recentes colocam em causa a especificidade devido à metodologia usada causar coloração inespecífica (ISFM 2019). Dois casos (de insuficiência cardíaca e colangio-carcinoma) de um total de 7 líquidos de derrame não PIF foram positivos por imunofluorescência num estudo e em outro 8 de 29 líquidos de derrame não PIF (incluindo dois gatos com insuficiência cardíaca e dois com neoplasia) foram positivos por imunohistoquímica (Tasker 2018).

É sugerido que o uso de sedimento de preparados de células a partir de amostras de efusões centrifugadas para obter amostras embebidas em parafina fixadas em formalina, pode ser tratado como amostras de tecido para imunohistoquímica pode melhorar a credibilidade da deteção do antígeno FCoV (Kipar and Meli 2014). No entanto, este processo deverá demorar mais tempo do que a realização da técnica de imunohistoquímica (Tasker 2018).

Recentemente utilizou-se a imunocoloração em aspirados de agulha fina de linfonodos mesentéricos de 41 gatos com suspeita de PIF examinados *post-mortem*. De um total de 30 gatos com PIF, diagnosticados por histopatologia e imunohistoquímica, 53% ou seja 17 eram positivos para imunocitoquímica nos aspirados de agulha fina dos linfonodos mesentéricos. Um dos 11 gatos sem PIF por histopatologia e imunohistoquímica, 9%, foi positivo por imunocitoquímica dos aspirados de agulha fina dos linfonodos mesentéricos. Este estudo determinou para a imunocitoquímica uma sensibilidade de 53% e 91% de especificidade.

Num estudo, 17 em 20 gatos com PIF foram positivos e 3 em 18 gatos sem PIF deram positivo com a técnica de imunohistoquímica para deteção de FCoV no líquido cefalorraquidiano de gatos com PIF neurológico. Um outro estudo apresentou uma sensibilidade de 64% e 81,8% de especificidade quando testou o humor aquoso para FCoV por imunohistoquímica (Tasker 2018).

### **3.12 Histopatologia**

Apesar dos avanços laboratoriais das últimas décadas o diagnóstico de PIF continua a basear-se na combinação da história de fatores de risco, sinais clínicos e achados laboratoriais. Com a exceção da imunocoloração, PCR para deteção de mutações e histopatologia, não existe um teste de diagnóstico definitivo para PIF (Drechsler et al. 2011).

Em muitos casos a PIF é ainda diagnosticada por lesões macroscópicas e histopatológicas. Os infiltrados inflamatórios são caracterizados de acordo com a presença de macrófagos, linfócitos, células plasmáticas e um menor número de neutrófilos. A

característica principal das lesões é a inflamação e vasculite perivascular granulomatosa ou piogranulomatosa. Os vasos que são afetados em primeiro lugar são as veias de pequeno a médio calibre. O infiltrado perivascular de macrófagos por vezes estende-se até à parede do vaso levando a áreas de necrose e esporádica hiperplasia do músculo liso. A vasculite é uma das lesões microscópicas que distingue o PIF de outras doenças infecciosas inflamatórias (Drechsler et al. 2011).

Nos casos de PIF não exsudativa o cérebro, a medula espinal ou os olhos podem ser os únicos locais afetados. As lesões histopatológicas no cérebro inclui periventriculite, ventriculite, endencefalite e leptomeningite com reação inflamatória dirigida aos vasos com ou sem vasculite como lesão inflamatória característica (Drechsler et al. 2011).

Normalmente as lesões descritas nos olhos são uveíte bilateral anterior granulomatosas acompanhadas geralmente por coriorretinite (Drechsler et al. 2011).

Pode-se observar uma forma cutânea intradérmica não prurítica da PIF, em que as lesões cutâneas são descritas como pápulas intradérmicas sobre a região dorsal e em ambas as paredes torácicas laterais (Drechsler et al. 2011).

#### **4. Tratamento**

De uma forma geral, a PIF é uma doença progressiva e fatal, apesar de novos fármacos antivirais terem demonstrado resultados promissores. O objetivo do tratamento é prolongar e melhorar a qualidade de vida através da redução da resposta inflamatória e do tratamento de suporte (Norris 2007).

Antes de iniciar o tratamento é essencial a obtenção de um diagnóstico definitivo de PIF. Uma vez que é uma doença imunomediada, o tratamento é direcionado à supressão da resposta imunitária inapropriada, geralmente através da utilização de corticosteróides ou imunossupressores.

##### **4.1 Anti-inflamatórios, corticosteróides e imunossupressores**

A administração de prednisolona pode resultar em remissões temporárias em alguns gatos pelo que é o anti-inflamatório e imunossupressor mais usado na PIF. No entanto, estudos em que é utilizado um anti-inflamatório não esteróide como o meloxicam apresentaram taxas de sobrevivência semelhantes sem causar imunossupressão (Hugo and Heading 2015; Murphy et al. 2018; Norris 2007). Um estudo documenta a sobrevida prolongada em 4 anos (787 dias), de um gato com PIF exsudativa tratado com meloxicam associado a um mês de metronidazol e tramadol (Hugo and Heading 2015). O meloxicam foi administrado na dose de 0,05mg/kg via oral a cada 24 horas, desde que a função renal e pressão sanguínea estivessem normais. Outro estudo utilizou meloxicam em 10 gatos



infetados experimentalmente que recuperaram utilizando um anti-viral GS-441524, que ainda não está disponível no mercado (Murphy et al. 2018).

A prednisolona é um anti-inflamatório esteroide relativamente seguro e barato. Estimula o apetite e suprime a resposta humoral e mediada por células. A dosagem inicial é de 2mg/kg por via oral a cada 24 horas, durante 10 a 14 dias. Depois, passar a 1mg/kg por via oral a cada 24 horas, durante 10 a 14 dias. Posteriormente 0,5mg/kg por via oral a cada 24 horas, durante 10 a 14 dias e por fim 0,5mg/kg por via oral, dia sim dia não por via oral até à recuperação ou morte (Norris 2007).

A talidomida não está licenciada para utilização em gatos. Não pode ser utilizada em gatas grávidas por ser teratogénica e a dose é 50 a 100 mg/kg administrada à noite. O seu uso na PIF visa reduzir a inflamação e a resposta humoral ao coronavírus felino, preservando a resposta imune mediada por células (Norris 2007).

## **4.2 Fármacos antivirais**

### **4.2.1 GS-441524**

O GS-441524, ainda que em fase de estudo, mostra-se promissor no tratamento da PIF atuando na inibição da replicação viral. Os estudos de Murphy et al, 2018 e Pedersen et al, 2019 demonstram resultados promissores. Reverteu a doença em 10 gatos quando administrado por via subcutânea, uma vez por dia durante duas semanas (Murphy et al. 2018). A dose utilizada foi de 2mg/kg a cada 24 horas por via subcutânea durante um mínimo de 12 semanas, podendo continuar durante uma ou mais semanas se persistência de valores anormais de proteína total. Poderá aumentar-se a dose para 4mg/kg a cada 24 horas por via subcutânea nos casos que necessitem de extensão de tratamento (Pedersen et al. 2019).

Cinco dos 31 gatos que iniciaram o tratamento morreram ou foram submetidos a eutanásia. Vinte e seis gatos sobreviveram às 12 semanas de tratamento. Desses apenas 8 voltaram a recidivar e após terem sido novamente submetidos ao protocolo de tratamento alcançaram a remissão. À data da publicação do artigo, 25 gatos permaneciam saudáveis (Pedersen et al. 2019).

### **4.2.2 GC376**

O GC376 é um antiviral inibidor de protease do tipo 3C, não disponível atualmente. Num estudo recente, 6 de 20 gatos entraram em remissão 18 meses depois de um período de tratamento de 12 semanas, em que o fármaco foi administrado subcutaneamente duas vezes por dia. Foi mais eficaz em gatos com a forma exsudativa de PIF do que na não exsudativa. Uma vantagem do GC376 sobre o GS-441524 é que pode ser dissolvido em

água, para que as injeções não sejam tão dolorosas (Pedersen et al. 2018; Pedersen et al. 2019).

#### **4.3.3 Interferão ômega e alfa**

Os interferões são antivirais de amplo espectro produzidos pelo organismo. São espécie específicos e por isso o mais eficaz é o interferão ômega felino recombinante. Até que o GS-441524 se torne comercialmente disponível, o interferão ômega felino é o tratamento preferencial para gatos com PIF.

O interferão ômega é uma glicoproteína monomérica relacionada com os interferões alfa e beta. É produzido por leucócitos infectados por vírus e tem propriedades antivirais e imunomoduladoras. O interferão ômega estimula a atividade das células natural killer e aumenta a expressão da classe I do complexo maior de histocompatibilidade, mas não a classe II de antígenos. O interferão ômega pode ser administrado por via oral, porque apresenta resistência ao suco gástrico. No entanto, como qualquer outro interferão, o ômega é mais eficaz se administrado no local onde decorre a infecção ou por via subcutânea (Addie 2008).

O Virbagen Omega é o interferão ômega felino recombinante produzido pela empresa Virbac e está disponível em muitos países.

O protocolo de tratamento para a forma exsudativa de PIF indicado consiste na administração de uma única dose de dexametasona, 1 mg/kg intratorácica ou intraperitoneal e administração de prednisolona, segundo o seguinte protocolo: 4 mg/kg/dia por 10 a 14 dias, reduzindo para 2 mg/kg/ dia por 10 a 14 dias, depois 1 mg/kg/dia por 10 a 14 dias, depois 0,5 mg/kg/dia por 10 a 14 dias, depois 0,25 mg/kg/dia por 10 a 14 dias, depois 0,25 mg/kg/ dia sim, dia não e por aí em diante. Caso ocorra remissão dos sinais clínicos, parar a administração de prednisolona. Se ocorrer regressão dos sinais clínicos, está indicado voltar à última dose administrada. O interferão ômega é administrado por via subcutânea na dose de 1 milhão UI/kg dia sim, dia não e passando a uma vez por semana após a remissão dos sinais (Addie 2008).

O protocolo para o tratamento da forma não exsudativa de PIF consiste na administração de prednisolona, seguindo o mesmo esquema de tratamento que a forma exsudativa, podem adicionar-se corticosteróides tópicos quando está presente uveíte devido à PIF. O interferão ômega é administrado por via oral na dose 50000 UI por gato, uma vez ao dia, até ao regresso de valores normais das globulinas, hematócrito e contagem de linfócitos e sinais clínicos (Addie 2008).

O interferão ômega felino é comercializado em recipientes com 10 milhões de unidades e é reconstituído com 1 ml do seu diluente. A solução é dividida por 10 seringas de 1 ml, cada um com 0,1ml, contendo 1 milhão de unidades cada uma. Nove das 10 seringas

são congeladas, mantendo as propriedades do interferão por 6 meses. A décima seringa é diluída com 19,9ml de soro estéril NaCl 0,9%, perfazendo 20ml de solução com 1 milhão UI de interferão ômega felino (50000 UI/ml). A solução é armazenada no frigorífico a uma temperatura de 4°C, até 3 semanas (Addie 2008).

O interferão alfa de origem humana também pode ser utilizado embora com menor eficácia. A dose do interferão alfa para a forma não exsudativa da PIF é 30 UI diariamente ou durante 7 dias em semanas alternadas por via oral. Na forma exsudativa administra-se 30 UI diariamente, podem ser administradas doses maiores por via intramuscular (104-106 UI por dia). Em 6 a 7 semanas, se o gato ainda estiver vivo, o interferão não estará a funcionar nessa dose porque o gato produzirá anticorpos contra ele (Addie 2018).

#### **4.3.4 Itraconazol**

O itraconazol é um anti-fúngico que num estudo recente demonstrou ser capaz de reduzir o coronavírus felino tipo I em laboratório. A dose é 10 mg/kg por via oral BID (Takano et al. 2019).

#### **4.3.5 Ciclosporina A**

Tem atividade imunossupressora e inibe a replicação do FCoV (Tanaka et al. 2017). Deve ser usada apenas em gatos sem título de anticorpos para toxoplasma ou que estejam a receber tratamento com clindamicina (Addie et al. 2009).

### **4.4 Tratamento imune de suporte para a forma exsudativa e não exsudativa**

A sobrevida será melhor em gatos não tratados concomitantemente com corticosteróides sistémicos, mas é seguro usar corticosteróides tópicos juntamente com o imunoestimulante de poliprenil em gatos com sinais intraoculares com PIF não efusivo (Legendre et al. 2017).

## **5. Prognóstico e Monitorização do tratamento**

O desenvolvimento de PIF leva sempre a um prognóstico reservado a grave, com um tempo de sobrevida de 3 a 200 dias (Ritz et al. 2007). O desfecho é fatal para todos os animais que desenvolvem a doença, sendo recomendada a eutanásia quando há declínio da qualidade de vida (Drechsler et al. 2011). Alguns gatos, especialmente os com a forma não exsudativa podem sobreviver durante meses ou até anos. A progressão da doença vai depender dos sinais clínicos presentes, mas o prognóstico é pior em gatos jovens e com a forma exsudativa, do que em gatos mais velhos e sem a forma exsudativa (Pedersen 2014).

## **6. Material e Métodos**

Foi efetuado um estudo retrospectivo em gatos com suspeita clínica de PIF e internados na UIDI do Hospital Escolar Veterinário (HEV) FMV-UL, no período compreendido entre outubro de 2013 e novembro de 2019. De 36 gatos FCoV positivos obteve-se confirmação de PIF em 18, sendo os restantes suspeitos de PIF. Numa primeira análise excluíram-se todos os que não foram testados para retrovírus, uma vez que os retrovírus podem provocar sinais clínicos semelhantes e têm uma maior prevalência na população. Os gatos com sinais clínicos indicativos de PIF, como derrame pleural, hipertermia, letargia, perda de peso ou sinais neurológicos em que apenas se obteve um resultado positivo para a presença de FCoV por sorologia ou PCR nas fezes ou sangue, foram considerados suspeitos de PIF. Para o diagnóstico definitivo utilizou-se um resultado de PCR positivo a coronavírus no líquido de derrame, histopatologia após necropsia ou mais recentemente PCR com pirosequenciação para deteção de mutações.

O estudo teve como objetivos:

- Identificar e classificar formas de PIF: exsudativa, não exsudativa e mista.
- Analisar alterações nos resultados do hemograma e análises bioquímicas.
- Identificar os fatores de risco na população em estudo.
- Desenhar uma árvore de decisão de diagnóstico mediante os recursos disponíveis no HEV (PCR em líquido de derrame, PCR com pirosequenciação e necropsia)

### **6.1 Métodos**

#### **6.1.1 Recolha e análise de dados**

Foi construída uma base de dados em Microsoft® Office Excel a partir dos dados recolhidos de fichas clínicas de cada animal dos programas informáticos de gestão de clínicas veterinárias *qvvet* e *Guruvet*, utilizados pelo HEV, complementados com as fichas clínicas em papel arquivadas na UIDI.

A estatística para investigação de potenciais fatores de risco foi realizada no programa de análise R i386, versão 3.6.1. Utilizou-se o teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson para uma distribuição bi-caudal, a probabilidade de significância escolhida foi de 0,05 e o teste exato de Fisher para calcular o valor-p, sempre que se verificassem valores inferiores a 5 nas tabelas de contingência, no caso das variáveis do tipo qualitativo. Realizou-se ainda uma função de sobrevivência com recurso a uma curva de Kaplan-Meier.

#### **6.1.2 Métodos de diagnóstico**

Para o diagnóstico definitivo consideraram-se PCR positivo a coronavírus no líquido de derrame, ou mais recentemente PCR com pirosequenciação para deteção de mutações.

Consideraram-se ainda achados macroscópicos e histopatológicos em necropsia (Figuras 3 e 4).

Todos os métodos de diagnóstico utilizados foram analisados no contexto da história clínica e de diferentes sinais clínicos, tanto inespecíficos (Figuras 5 e 6) como derrame pleural/abdominal e sinais neurológicos.

### **6.1.3 Exame físico**

Durante a hospitalização, realizou-se o exame físico dos animais, com monitorização da frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura. Registou-se a presença de líquido de derrame torácico ou abdominal, sinais neurológicos, sinais oculares, icterícia e sinais inespecíficos.



**Figura 3 - Rim com lesões pio granulomatosas. Imagem cedida pela Doutora Inês Machado (UIDI)**



**Figura 4 - Rim com lesões pio granulomatosas. Imagem cedida pela Doutora Inês Machado (UIDI)**



**Figura 6 - Gato com PIF com desidratação marcada. Imagens cedidas pela Doutora Inês Machado da UIDI**

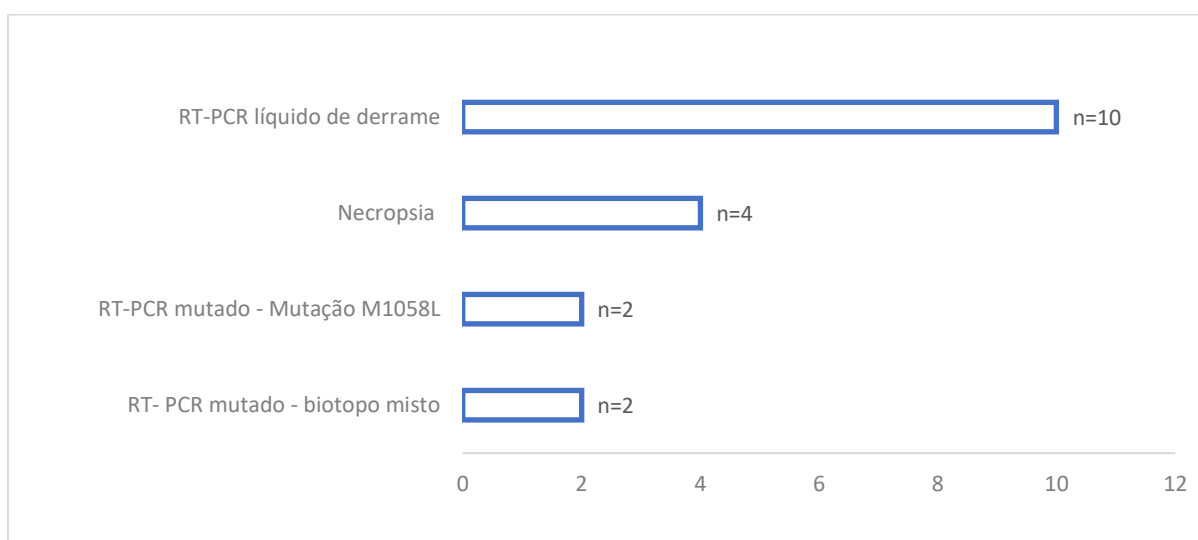


**Figura 5 - Gato com PIF com condição corporal diminuída e prostração. Imagens cedidas pela Doutora Inês Machado da UIDI**

## 7. Resultados

### 7.1 Diagnóstico definitivo

Dos 36 gatos positivos a FCoV, 18 foram diagnosticados laboratorialmente com PIF. Por PCR em líquidos de derrame diagnosticaram-se 10 gatos com PIF. Através de lesões histopatológicas após necropsia foram diagnosticados 4 gatos com PIF. Com o PCR para coronavírus mutado, 2 gatos apresentam biótopo misto, isto indica que tanto o biótopo não mutado como o mutado estavam presentes na amostra submetida. Por fim, 2 gatos apresentaram a mutação M10580L.



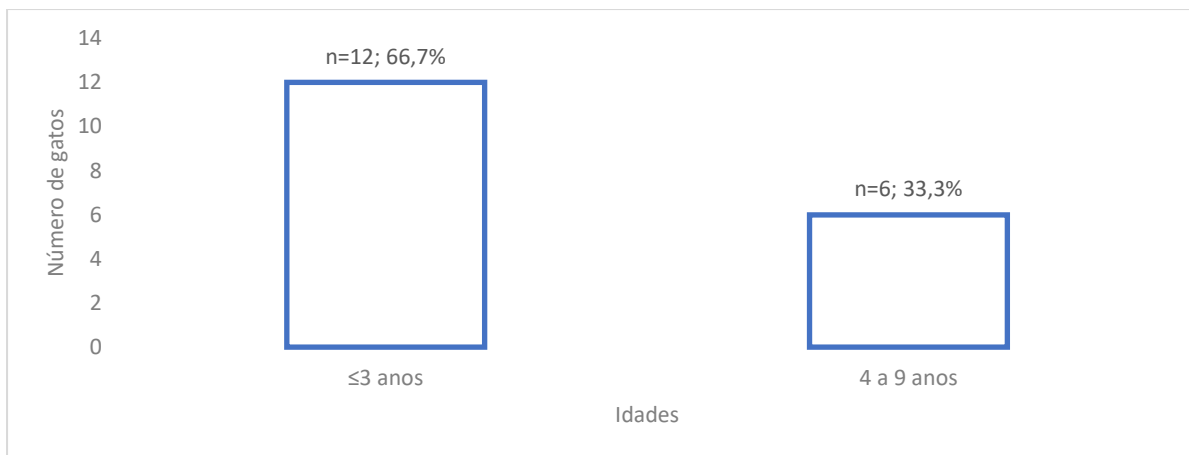
**Gráfico 1 - Métodos de diagnóstico definitivos dos casos PIF dos gatos hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2 Caracterização da população de gatos diagnosticados laboratorialmente com PIF

Dos 18 gatos com PIF, 9 são do género feminino (50,0%) e 9 do género masculino (50%), sendo que apenas 6 gatos eram esterilizados (33,3%) e os restantes 12 inteiros (66,7%).

#### 7.2.1 Idade

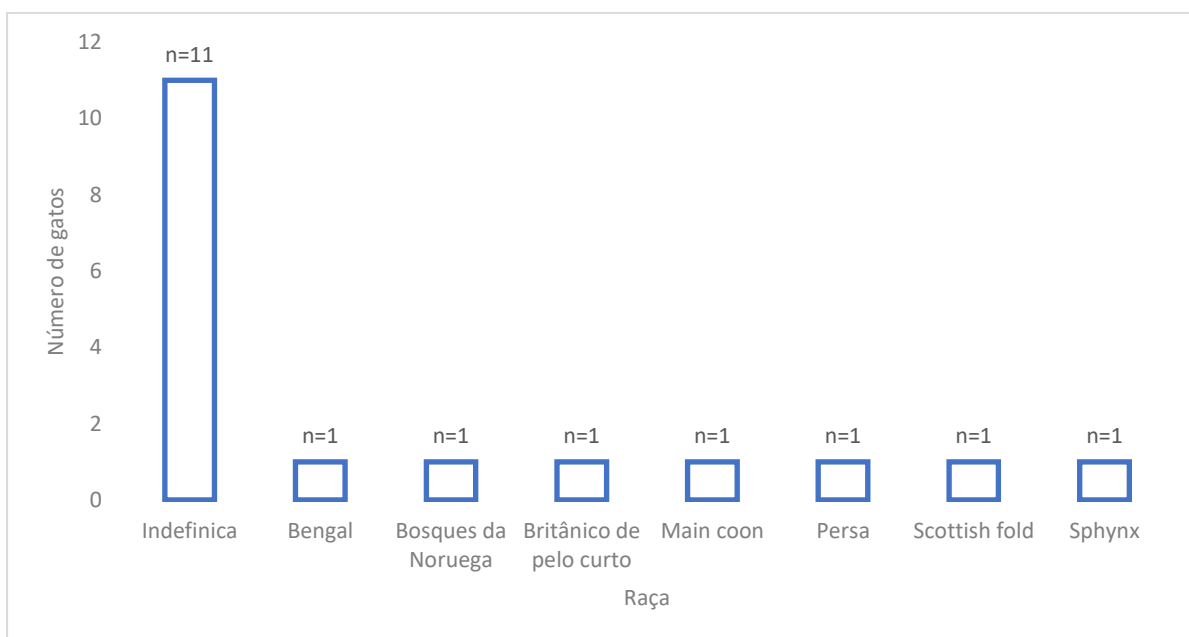
Estes foram divididos em dois grupos de idades, 12 gatos tinham idade inferior ou igual a 3 anos (66,7%) e 6 tinham idade compreendida entre os 4 e os 9 anos (33,3%). A mediana foi de 1,5 anos ( $2,8 \pm 3$ ).



**Gráfico 2 - Idade dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.2 Raça

Relativamente às raças observadas, 11 gatos eram de raça não definida e os restantes 7 distribuíram-se pelas raças, Bengal, Bosques da Noruega, Britânico de pelo curto, Main Coon, Persa, Scottish Fold e Sphynx.

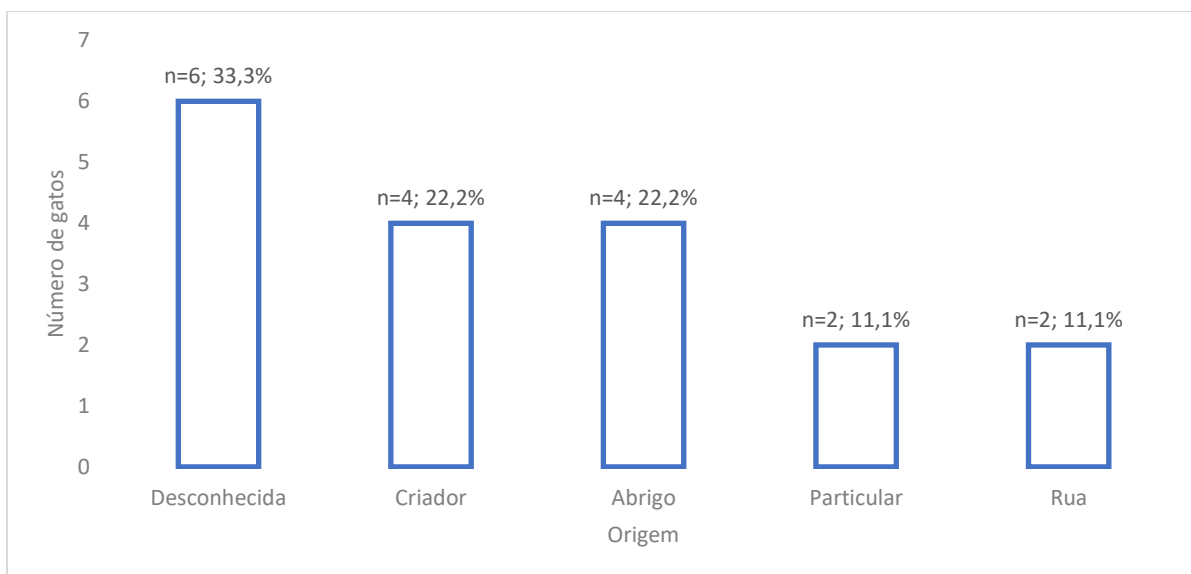


**Gráfico 3- Frequência de raças dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.3 Origem

Os gatos com PIF tiveram diferentes origens: 6 de origem desconhecida (33,3%), 4 de criador (22,2%), 4 de abrigo (22,2%), 2 de particulares (11,1%) e 2 de rua (11,1%).

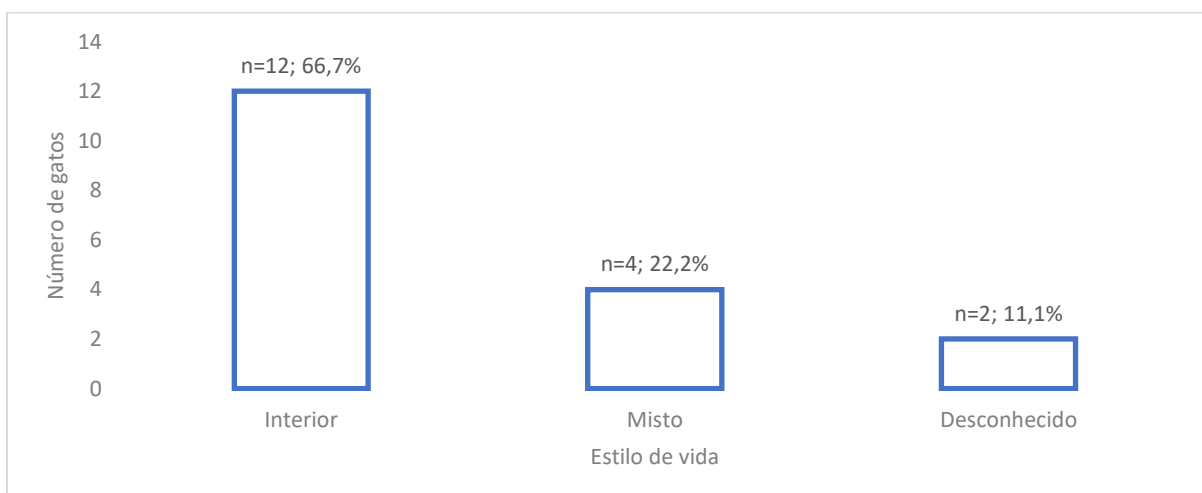




**Gráfico 4- Origem dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.4 Estilo de vida

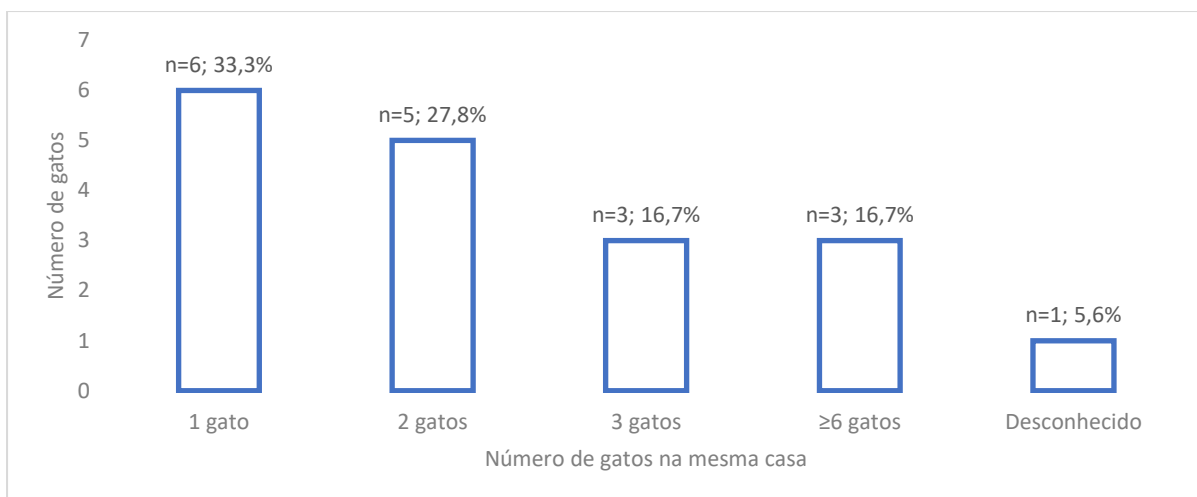
Em relação ao estilo de vida: 12 eram de interior (66,7%), 4 eram de interior com acesso ao exterior (22,2%) e 2 tinham estilo de vida desconhecido (11,1%).



**Gráfico 5 -Estilo de vida dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.5 Número de gatos na mesma casa

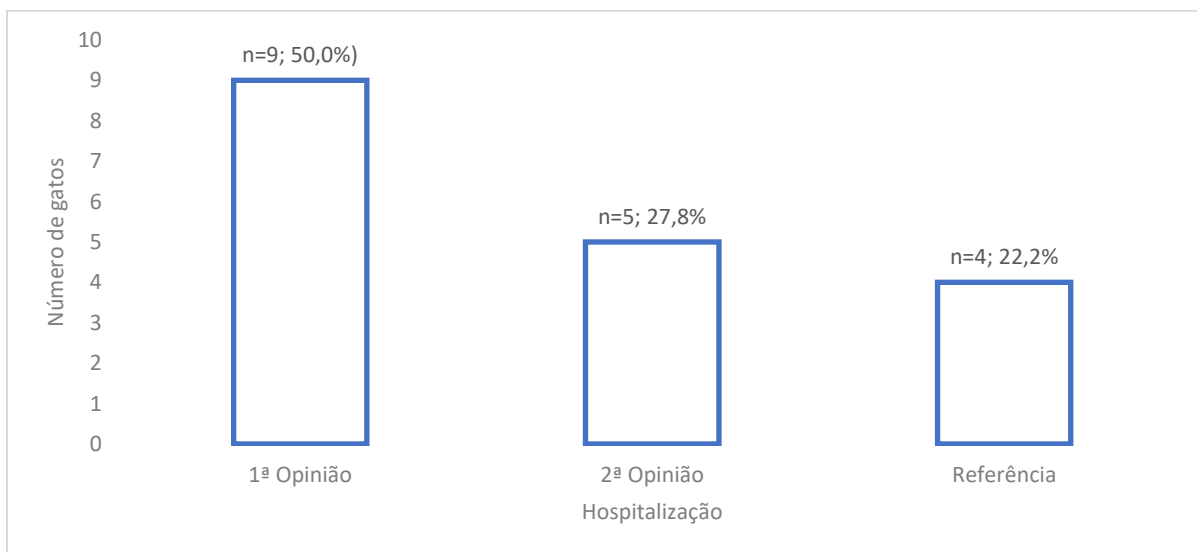
Relativamente a quantos gatos partilhavam o ambiente com que viviam os gatos com PIF hospitalizados na UIDI, 6 viviam num ambiente com apenas 1 gato (33,3%), 5 viviam com um total de 2 gatos (27,8%), 3 viviam com um total de 3 gatos (16,7%), 3 viviam com pelo menos 6 gatos (16,7%). Para 1 dos gatos desconhecia-se o número de outros gatos com que habitava (5,6%).



**Gráfico 6 - Número total de gatos com que habitam os felídeos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.6 Consultas de referência

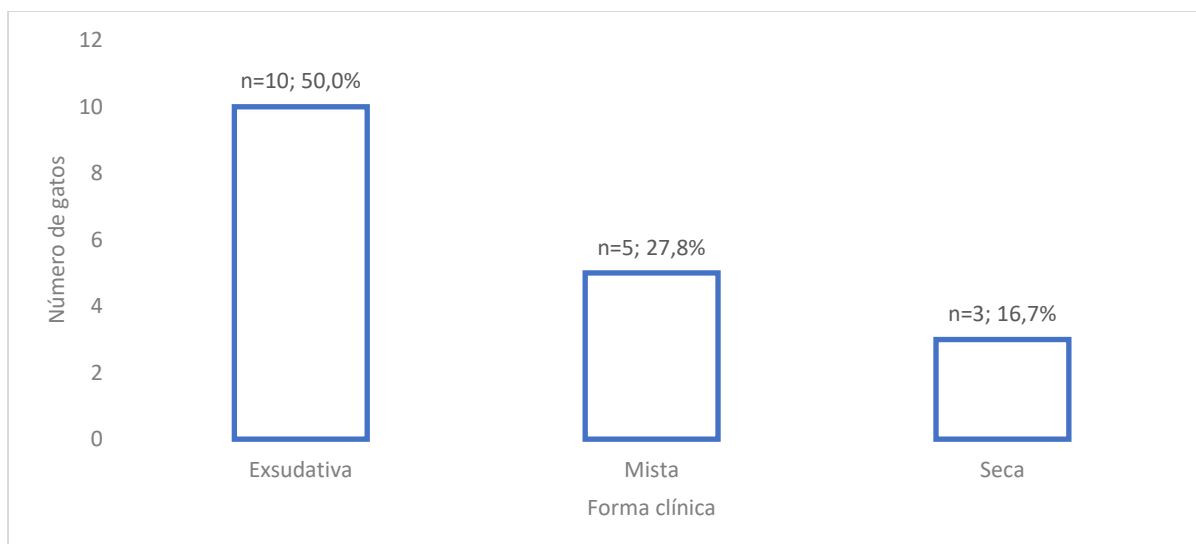
Dos 18 gatos com PIF, 9 deram entrada na UIDI através de uma consulta de primeira opinião (50,0%), 5 foram segundas opiniões (27,8) e 4 foram referenciados para o HEV por outro MV (22,2%)



**Gráfico 7- Classificação do tipo de hospitalização na UIDI dos gatos com PIF (n=18)**

### 7.2.7 Formas clínicas de PIF

No que respeita as diferentes formas clínicas de PIF, 10 gatos apresentaram a forma exsudativa (55,6%), 5 a apresentação mista (27,8%) e 3 a forma não exsudativa (16,7%).

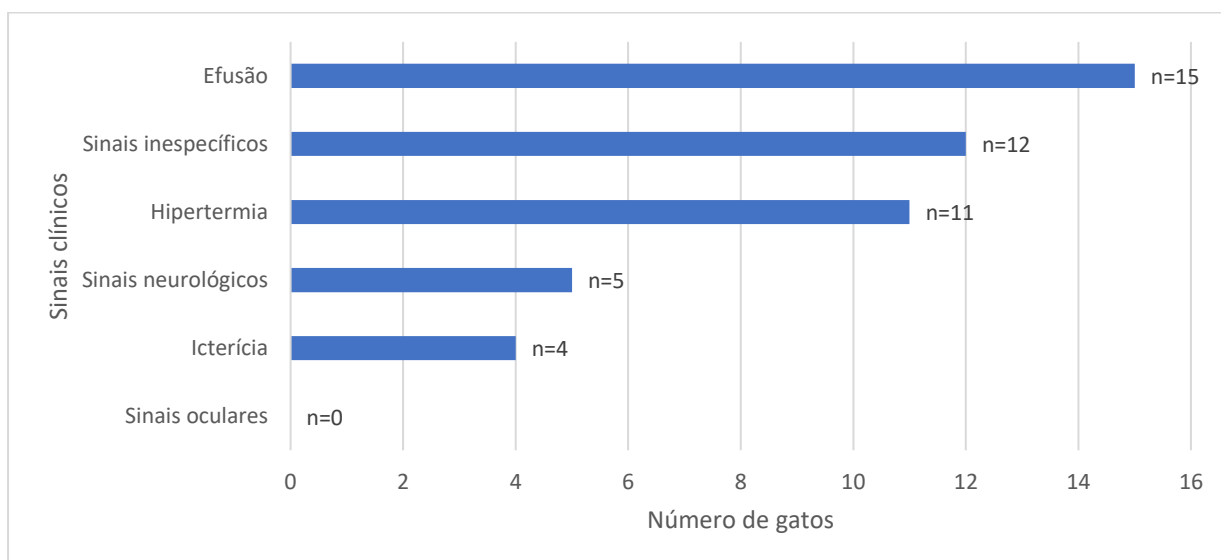


**Gráfico 8 - Formas clínicas dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.8 Sinais clínicos

Aquando da hospitalização dos gatos com PIF observaram-se diversos sinais clínicos, sendo que a maioria dos gatos apresentava mais do que um sinal clínico em simultâneo.

Registaram-se 15 gatos com líquidos de derrame abdominal ou torácica, 12 com outros sinais clínicos considerados inespecíficos (letargia, anorexia, perda de peso ou incapacidade de ganhar peso ou paragem no crescimento em gatos jovens), 11 com hipertermia persistente, 5 com sinais neurológicos, 4 com icterícia. Nenhum gato apresentou sinais oculares.

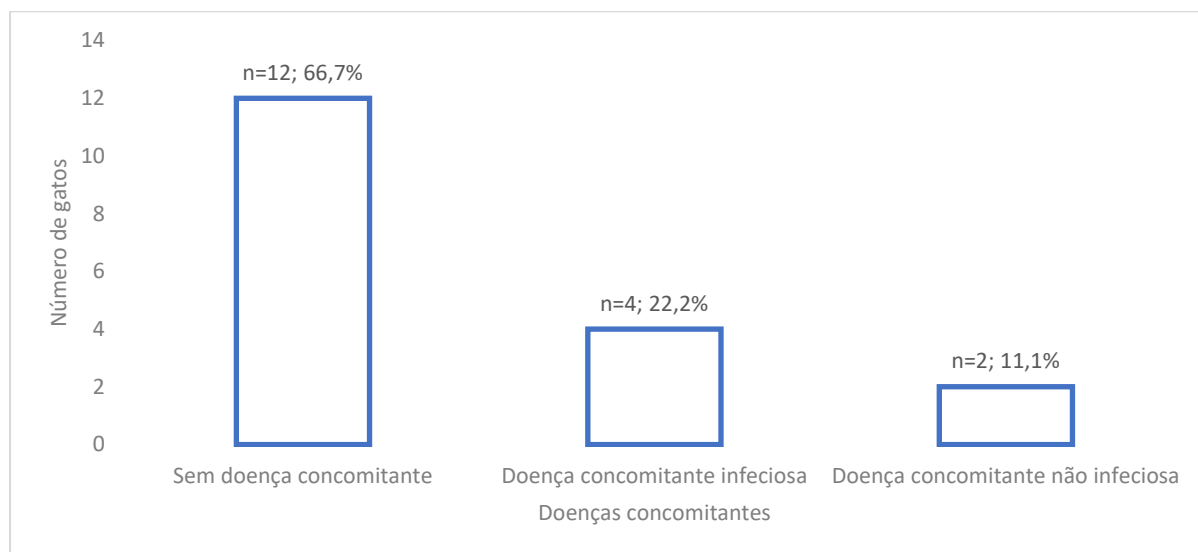


**Gráfico 9- Sinais clínicos dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI**

### 7.2.9 Doenças concomitantes

Dos 18 gatos com PIF, 12 (66,7%) não apresentavam qualquer tipo de doença concomitante. Quatro gatos apresentavam doenças infecciosas concomitantes (22,2%), nomeadamente 3 gatos apresentavam doença do trato respiratório superior inespecífica e 1

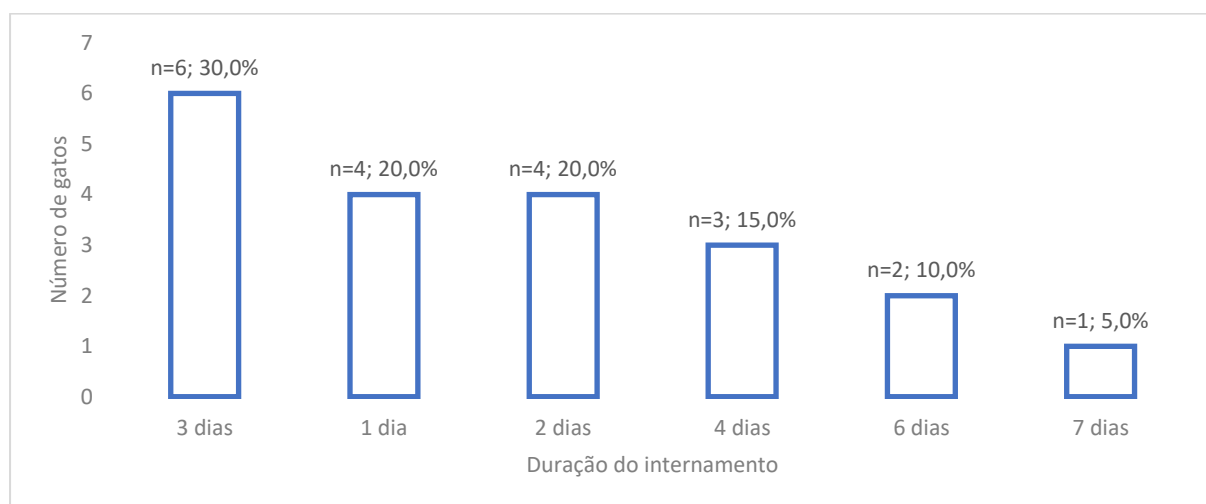
era portador do vírus da imunodeficiência felina (FIV). Dois gatos apresentavam doença concomitante não infecciosa (11,1%).



**Gráfico 10 - Doenças concomitantes nos gatos hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.10 Duração da hospitalização

Realizaram-se 20 internamentos, 2 dos quais numa data posterior ao primeiro internamento. A mediana do internamento foi 3 dias ( $3,05 \pm 1,73$ ). Seis permaneceram internados durante 3 dias (30,0%), 4 por 1 dia (20,0%), 4 durante 2 dias (20,0%), 3 por 4 dias (15,0%), 2 por 6 dias (10,0%) e 1 por 7 dias (5,0%).



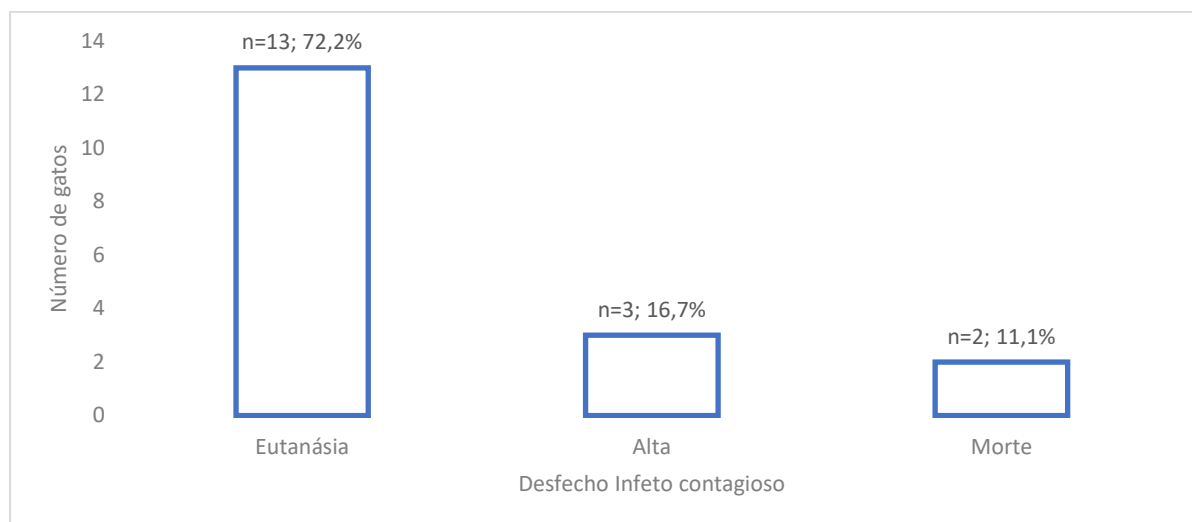
**Gráfico 11 - Duração do internamento dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=20)**

### 7.2.11 Desfecho infeto contagioso

O desfecho infeto contagioso teve em conta a evolução da doença, não se limitando à duração da hospitalização, mas sim a última informação adquirida sobre o estado clínico do animal. Os dois gatos com PIF que tiveram alta no primeiro internamento na UIDI, mais tarde tiveram de voltar a ser hospitalizados. Estes foram submetidos a eutanásia ou

morreram, o que é tido em conta como desfecho infeto contagioso. A classificação de alta como desfecho infeto contagioso foi aplicada aos gatos que tiveram alta da unidade de isolamento após regressão dos sinais clínicos e manutenção, até ao último seguimento registado.

Analisando os 18 gatos com PIF, 13 foram submetidos a eutanásia (72,2%), 3 tiveram alta da unidade de isolamento (16,7%) e 2 morreram (11,1%).

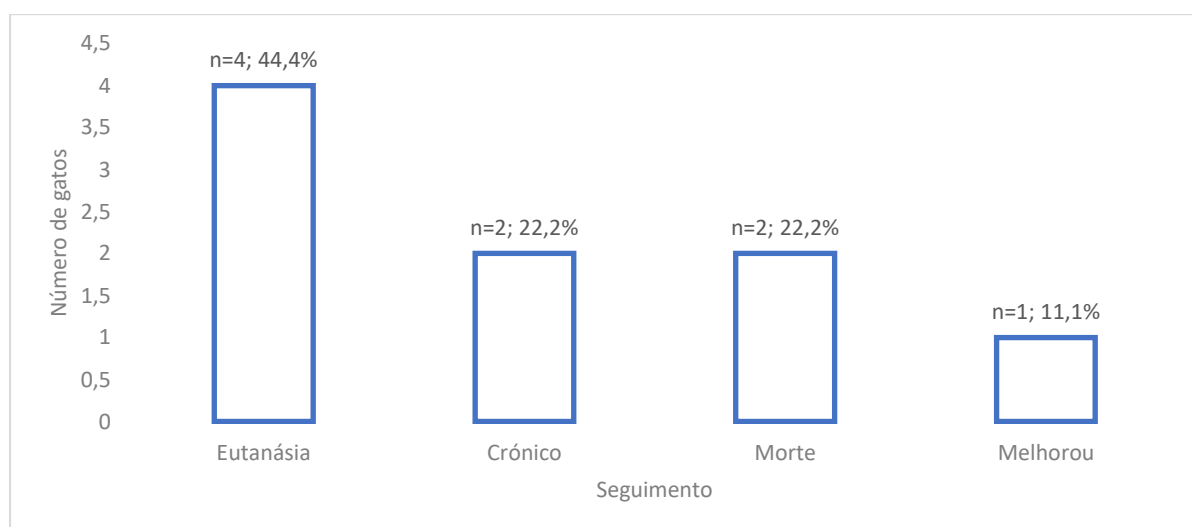


**Gráfico 12 - Desfecho infeto contagioso dos gatos com PIF hospitalizados na UIDI (n=18)**

### 7.2.12 Seguimento

Foi aconselhado aos proprietários voltarem com os seus animais de companhia cerca de uma semana após a alta da UIDI. Uma parte dos animais regressou efetivamente nesse período e noutros casos contactou-se os proprietários para saber informações sobre a evolução.

Da análise efetuada na consulta de seguimento verificou-se que dos 9 gatos que tiveram alta do internamento, 4 foram submetidos a eutanásia (44,4%), 2 ficaram crónicos (22,2%), 2 morreram (22,2%) e 1 melhorou (11,1%).



**Gráfico 13 - Seguimento dos gatos com PIF que tiveram alta da hospitalização na UIDI (n=9)**

### 7.3 Análise do líquido de derrame

Dos 18 gatos com PIF, realizou-se em 8 análise do líquido de derrame e em todos os gatos o valor da proteína total foi superior a 3,5 g/dL (valores compreendidos entre 5,2 e 8,0 g/dl). Em 6 destes gatos o valor do rácio albumina:globulinas foi inferior a 0,4, em 1 gato este valor foi de 0,5 e em outro foi de 0,45. A mediana do rácio albumina: globulinas foi de 0,36 ( $0,36 \pm 0,9$ ) e da proteína total foi de 5,2 ( $5,9 \pm 1,1$ ) g/gL (Tabela 1).

<b>Rácio Albumina: Globulinas</b>	<b>Proteína total (g/dL)</b>
0,36	5,2
0,24	5
0,36	8
0,5	5
0,39	5
0,33	5,2
0,25	7
0,45	7
Mediana: 0,36	Mediana: 5,2

**Tabela 1- Análise do líquido de derrame de 8 gatos com PIF hospitalizados na UIDI**

Nos casos em que não foi possível, quer por ausência de líquido de derrame, quer por indisponibilidade financeira para realizar a análise de líquido de derrame, calculou-se o rácio albumina:proteína total ou albumina:globulinas no sangue. Registou-se ainda os valores da proteína total no sangue. Estes parâmetros foram avaliados de acordo com os mesmos valores de referência utilizados para a análise dos líquidos de derrame. Os valores de proteína total destes gatos encontravam-se todos superiores a 3,5 g/dL e apenas um gato apresentou o rácio superior a 0,4. Em 1 gato não foi realizada qualquer análise sanguínea e em 3 realizou-se o proteinograma, registando-se um rácio albumina:globulinas de 0,51, 0,48 e 0,26 e ainda um valor de gamaglobulinas de 2,1 g/dL, 1,3 g/dL e 4 g/dL.

<b>Rácio Albumina: Globulinas ou Albumina: Proteína total</b>	<b>Proteína total (g/dL)</b>
0,3	9,2
0,31	8,9
0,26	8,4
0,34	6,4
0,31	8,7
0,34	7,0
0,22	9,0
0,44	4,5
0,28	6,1
0,39	7,6
Mediana: 0,31	Mediana: 8,0

**Tabela 2 – Análise dos rácios albumina:globulinas ou albumina:proteína total e valor de proteína total no sangue dos gatos hospitalizados na UIDI que não realizaram análise de líquido de derrame (n=10)**

#### 7.4 Hemograma

Todos os gatos com PIF hospitalizados na UIDI foram sujeitos a hemograma, realizado pelo laboratório de análises clínicas, estando apresentadas na tabela 3 as frequências das alterações encontradas nos parâmetros hematológicos consideradas mais relevantes.

<b>Teste</b>	<b>Valores Referência</b>	<b>Número de gatos</b>	<b>Percentagem abaixo da referência</b>	<b>Percentagem dentro da referência</b>	<b>Percentagem acima da referência</b>
<i>Hematócrito (%)</i>	24-45	18	38,9	61,1	0
<i>Hemoglobina (g/dl)</i>	8-15	17	41,2	58,8	0
<i>VCM (fL)</i>	39-55	15	40,0	53,3	6,7
<i>CHCM (g/gL)</i>	30-36	15	6,7	86,6	6,7
<i>Leucócitos (células/<math>\mu</math>L)</i>	5500-19500	18	11,1	61,1	27,8
<i>Neutrófilos (células/<math>\mu</math>L)</i>	2500-12500	15	0	60,0	40,0
<i>Linfócitos (células/<math>\mu</math>L)</i>	1500-7000	15	53,3	46,7	0
<i>Plaquetas (células/<math>\mu</math>L)</i>	300-700	18	83,3	16,7	0

**Tabela 3 - Comparação dos achados hematológicos com valores de referência do Laboratório de Análises Clínicas FMV-UL**

Cerca de 38,9 % dos gatos apresentavam uma diminuição significativa do hematócrito e 41,2 % diminuição da hemoglobina, pelo que uma porção significativa dos gatos apresentavam anemia (38,9%). O volume corpuscular médio encontrou-se abaixo dos valores de referência em 40% dos casos, aumentado em 6,7% e dentro dos valores de referência em 53,3%. A concentração da hemoglobina corpuscular média estava baixa em 6,7% dos casos, elevada em 6,7% e dentro dos valores normais em 86,6%. Dos 18 gatos, 11,1% apresentavam leucopénia, 27,8% leucocitose e os restantes tinham contagem leucocitária normal. De um total de 15 gatos, 40% apresentava neutrófila e 60% apresentava valores dentro do intervalo de referência. De 15 gatos, 53,3% apresentavam linfopénia e os restantes 46,7% dentro do intervalo de referência. Registou-se trombocitopénia em 83,3% dos gatos e 16,7% com contagem dentro dos valores de referência. De ter em atenção que na grande maioria dos hemogramas se observou agregação plaquetária de grau moderado a elevado.

### 7.5 Análises bioquímicas

Teste	Valores Referência	Número de gatos	Percentagem abaixo da referência	Percentagem dentro da referência	Percentagem acima da referência
<i>Bilirrubina total (mg/dL)</i>	0,0-0,23	5	0	0	100
<i>FAS (U/L)</i>	0-90	5	0	60	20
<i>ALT (U/L)</i>	10-75	13	0	61,1	38,9
<i>Ureia (mg/dL)</i>	30-60	14	21,4	64,3	14,3
<i>Creatinina (mg/dL)</i>	0,84-2,04	17	58,8	35,3	5,9
<i>Albumina (g/dL)</i>	2,5-3,9	14	57,1	42,6	0
<i>Proteína total (g/dL)</i>	6,0-8,2	16	18,8	37,4	43,8

**Tabela 4 - Comparação dos achados bioquímicos com valores de referência do Laboratório de Análises Clínicas FMV-UL**

De acordo com a tabela 4, dos 5 gatos testados para bilirrubina total todos apresentavam um aumento significativo. Apenas 5 foram testados para fosfatase alcalina, em que 20% se encontravam aumentada, 20% diminuída e 60% dentro dos valores de referência. Os valores de ALT encontravam-se aumentados em 38,9% dos 13 gatos testados, dentro dos valores de referência de 61,1% destes. A ureia encontrava-se aumentada em 14,3% dos 14 gatos testados, diminuída em 21,4% e 64,3% dentro da referência. A creatinina foi testada em 17 gatos, estava diminuída em 58,8%, dentro da referência em 35,3% dos gatos e elevada em 5,9% dos gatos testados. A albumina registou valores dentro da referência em 42,6% dos 14 gatos e diminuição em 57,1%. Verificou-se hiperproteinémia em 43,8% dos 16 gatos,



37,4% dos gatos tem proteína dentro da referência e 18,8% com valores diminuídos. Apenas um animal apresentava azotemia, quando comparando os valores de ureia e creatinina.

O gato diagnosticado com colangiohepatite pancreatite concomitante apresentava bilirrubinemia e icterícia. Dos restantes gatos com bilirrubinemia apenas um apresentava icterícia.

## 7.6 Distribuição de casos

O gráfico 14 apresenta a distribuição temporal dos casos de PIF nos 74 meses deste estudo, observando-se 0 a 2 casos por mês, com um aumento do número de casos a partir de 2019.

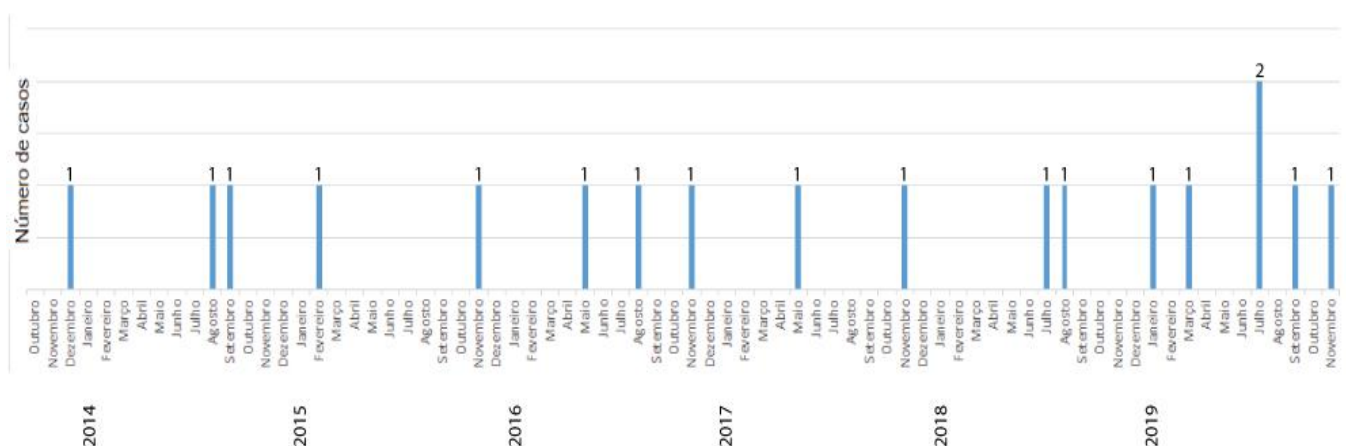


Gráfico 14 - Distribuição temporal dos casos de PIF nos gatos hospitalizados na UIDI (n=18)

## 7.7 Dados estatísticos sobre os fatores de risco de PIF

Os fatores de risco para o desenvolvimento de PIF testados foram a idade, a raça, o estilo de vida, a origem, número de gatos com que habita o gato e a presença de fatores de stress. O grupo de caso corresponde aos 18 gatos com PIF e o grupo controlo compreende 36 gatos seleccionados aleatoriamente da base de dados da UIDI com 553 gatos.

Por forma a tornar a estatística mais simples diminuiu-se o número de variáveis do estilo de vida e origem. Assim, o estilo de vida “exterior” englobou os gatos que habitam no exterior e os que são de interior mas têm acesso ao exterior. A origem “particular” englobou os gatos de origem de criador e particular e a origem “rua” englobou os gatos de rua e de abrigos. O fator “número de gatos” focou-se em saber se um número igual ou superior a 6 gatos é estatisticamente significativo como fator de risco. A exposição a stress avaliou a presença de pelo menos um dos seguintes fatores de stress num período de até 2 meses antes do aparecimento de sinais clínicos sugestivos de PIF: adoção, estadia em abrigo, cirurgia, episódio de doença do trato respiratório superior felino (DTRSF), habitar com outro

gato com PIF, realização de uma viagem, novos elementos em casa (cão, gato, bebé), fuga e reprodução (lactação, parto, gravidez) (Sykes and Greene 2011; Riemer et al. 2016).

Apresenta-se na tabela 5 os valores de frequência relativas, valor de p calculado pelo teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson ou teste exato de Fisher, para um intervalo de confiança (IC) de 95%.

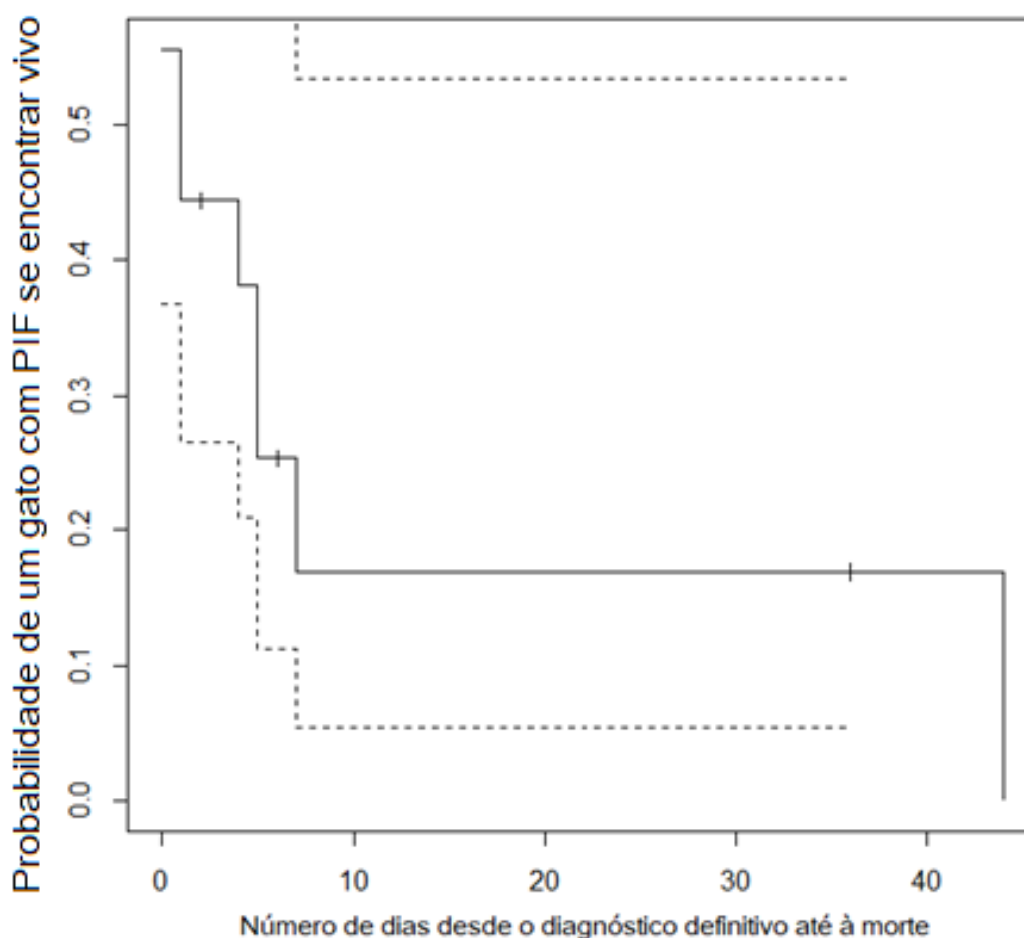
Fatores de Risco		Caso (%)	Controlo (%)	Valor de p
<b>Idade</b>	≤ 3 anos	41,9 (n=13)	58,1 (n=18)	0,03899
	4 a 9 anos	38,5 (n=5)	61,5 (n=8)	
	≥ 10 anos	0,0 (n=0)	100,0 (n= 10)	
<b>Raça</b>	De raça	87,5 (n= 7)	12,5 (n=1)	0,001143
	Raça indefinida	23,9 (n=11)	76,1 (n=15)	
<b>Estilo de vida</b>	Desconhecido	28,6 (n= 2)	71,4 (n=5)	0,2206
	Exterior	20,0 (n=4)	80,0 (n=16)	
	Interior	44,4 (n=12)	55,6 (n=15)	
<b>Origem</b>	Desconhecida	25,0 (n=6)	75,0 (n=18)	0,03812
	Particular	75,0 (n=6)	25,0 (n=2)	
	Rua	27,3 (n=6)	72,7 (n=16)	
<b>Número de gatos</b>	<6	31,1 (n=15)	68,9 (n=32)	0,67
	≥6	42,9 (n=3)	57,1 (n=4)	
<b>Exposição a stress</b>	Sim	68,8 (n=11)	31,2 (n=5)	0,00097
	Não	17,1 (n=7)	82,9 (n=31)	

**Tabela 5 - Dados estatísticos dos fatores de risco para PIF dos gatos hospitalizados na UIDI com PIF (n=18)**

## 7.8 Sobrevivência

Dos 18 gatos com PIF, apenas 3 estavam vivos aquando do último seguimento, os restantes 15 foram submetidos a eutanásia ou morreram devido à doença. Os 3 que se encontravam vivos ao último dia do seguimento, sobreviveram 2, 6 e 36 dias (informação obtida por contacto telefónico). Dos 15 que foram submetidos a eutanásia ou morreram, 8 faleceram no dia em que se estabeleceu o diagnóstico definitivo. Em relação aos restantes, 1 dia após o diagnóstico 2 faleceram, após 4 dias 1 faleceu, após 5 dias 2, após 7 dias 1 e após 44 dias outro. O gráfico 15 representa a função de sobrevivência com recurso a uma curva de Kaplan-Meier relacionando a probabilidade de um gato se encontrar vivo após o diagnóstico definitivo de PIF com o número de dias desde o diagnóstico até à morte ou último seguimento, com um intervalo de confiança de 95%. Uma vez que a grande maioria dos gatos

morreu no próprio dia do diagnóstico a probabilidade de sobrevivência é muito baixa, encontrando-se entre 0,17% e 0,45%, aproximadamente.



**Gráfico 15 - Função de sobrevivência com recurso a uma curva de Kaplan-Meier, que relaciona a probabilidade de um gato com PIF se encontrar vivo depois do diagnóstico e o número de dias entre o diagnóstico definitivo e a sua morte ou último seguimento, com uma confiança de 95%(representado por ----).**

## 8. Discussão

Os resultados apresentados visaram a caracterização da população de gatos com PIF hospitalizada na UIDI e identificação de diversos fatores determinantes de doença que podem constituir fatores de risco para contrair a doença infecciosa, com as limitações inerentes a um estudo epidemiológico descritivo.

A qualidade dos dados recolhidos depende de vários fatores como a exatidão das informações transmitidas pelos proprietários, a heterogeneidade do rigor com que se registou a anamnese, que à exceção do registo do peso e da temperatura foram realizados através de um campo de preenchimento livre. Por isso, não foi possível obter detalhes exatos sobre o estilo de vida, origem e o número de gatos com que cohabita o gato doente.

A obtenção de um diagnóstico definitivo de PIF foi influenciado pelas condições socioeconómicas dos proprietários e a disponibilidade de métodos de diagnóstico definitivos. As condições económicas juntamente com o facto de haver a suspeita de se tratar de PIF, uma doença infecciosa fatal, faz com que em alguns casos não se tenham realizado testes complementares de diagnóstico, tendo sido os animais tratados sintomaticamente ou submetidos a eutanásia quando a qualidade de vida se encontrava comprometida. A evolução dos métodos de diagnóstico definitivos disponíveis, nomeadamente a introdução do PCR em tempo real do vírus mutado, pode ter influenciado a escolha de exames complementares. Ainda relativamente à influência do aspeto socioeconómico, o diagnóstico de PIF, uma doença infecciosa sistémica e letal, sem cura e tratamento paliativo dispendioso levou alguns donos a optar pela eutanásia na impossibilidade de suportar financeiramente o acompanhamento correto. Quanto aos exames complementares houve uma grande perda de informação por razões tanto socioeconómicas como por falta de rigor clínico na sua seleção, por não existirem achados patognomónicos de PIF.

A PIF está sujeita a fatores associados ao agente, hospedeiro e meio ambiente. Os fatores virais determinantes da doença são representados pelos biótipos e serotipos do FCoV. Contudo os fatores associados aos hospedeiros e ao ambiente são também importantes para compreender que fatores aumentam o risco de desenvolvimento da doença.

### **8.1 Caracterização da população estudada**

Verificou-se um equilíbrio entre os géneros femininos (50%) e masculino (50%), não sendo uma grande percentagem de gatos esterilizados (66,7%). Uma razão possível para este fato pode ser por a maioria dos animais ser muito jovem (mediana de 1 ano).

Ainda em relação à idade observou-se um predomínio da faixa até aos 3 anos (66,7%) e os restantes entre os 4 e os 9 anos (33,3%). Estes dados estão de acordo com Sykes (2013) que afirma que apesar de os gatos poderem desenvolver PIF em qualquer idade, na maioria ocorre entre os 3 meses e os 3 anos. Contudo este estudo não apresentou casos com idade igual ou superior a 10 anos, uma faixa etária que segundo Sykes (2013) se encontra predisposta, por os animais portadores de coronavírus terem maior probabilidade de ter um sistema imunitário enfraquecido.

Os fatores ambientais “origem” e “estilo de vida” são importantes para o desenvolvimento de PIF. Está descrito na literatura, Addie et al (2009) que ter um estilo de vida exterior ou com acesso ao exterior é um fator de proteção para o desenvolvimento de PIF, uma vez que os gatos de rua podem ter uma prevalência de infeção por FCoV inferior aos gatos de interior. Este fato deve-se à menor densidade populacional e porque os gatos de rua enterram as suas fezes no exterior, o que se traduz numa menor contaminação fecal quando comparando com os gatos de interior (Drechsler et al. 2011). Na população de gatos

com PIF hospitalizados na UIDI verificou-se uma elevada proporção de desconhecidos para a origem (33,3%) e para o estilo de vida (11,1%), o que reflete uma falha na recolha da anamnese. Verificou-se uma elevada proporção de gatos com estilo de vida interior (66,7%), representando os animais muito jovens nascidos em casa ou recém adotados.

Em relação ao tipo de consulta metade dos animais entrou por consulta de primeira opinião (50%), as consultas de segunda opinião apresentaram uma proporção de 27,8% e os casos referenciados representaram 22,2% do total de felídeos diagnosticados com PIF.

No que respeita a raça, observou-se uma pequena diferença entre gatos de raça pura (38,9%) e de raça indefinida (61,1%), com predominância para esta última. O estudo de Riemer et al (2016) com 231 gatos com PIF, mostrou que os gatos de raça pura não estavam sub-representados quando comparados com a população clínica.

Relativamente à partilha do ambiente com outro(s) gato(s), apenas uma pequena proporção vivia com mais de 6 gatos (16,7%), o que mostra haver poucos casos de PIF em casas com mais de 6 gatos, sendo estas uma importante fonte de contágio através da partilha de caixotes de areia (Sykes 2013).

Observou-se que 50% dos gatos com PIF laboratorialmente confirmada deram entrada no internamento por uma consulta de primeira opinião. Isto pode ser justificado por os animais se apresentarem rapidamente com uma forma grave e avançada da doença, levando os tutores a dirigirem-se ao HEV.

Relativamente à forma clínica observou-se predominância da forma exsudativa (55,6%). A forma não exsudativa representou apenas 16,7%. Está descrito que a forma exsudativa é mais comum que a não exsudativa, representado cerca de 60 a 70% dos casos (Chandler and Gaskell 2008), o que está de acordo com o encontrado no presente estudo. Por outro lado, muitos gatos apresentam ambas as formas exsudativa e não exsudativa, designada forma mista (Sykes 2013). Esta forma deve-se à progressão da doença de uma forma não exsudativa para exsudativa como consequência da progressão da falha do sistema imunitário (Sykes and Greene 2011).

Relativamente aos sinais clínicos, 15 dos 18 gatos com PIF apresentavam líquido de derrame abdominal ou torácico, com apresentação clínica exsudativa ou mista. Quatro dos 5 gatos com sinais neurológicos apresentavam também líquido de derrame. Isto pode dever-se à progressão da doença de uma forma não exsudativa para exsudativa como consequência da progressão da falha do sistema imunitário (Sykes and Greene 2011). Dos 4 gatos com icterícia, 3 apresentavam a forma exsudativa e 1 a forma mista, sendo a icterícia mais comum na forma exsudativa (Tasker 2018). Nenhum gato registou sinais oculares, o que pode ser justificado por uma amostragem muito pequena ou os animais terem sido submetidos a eutanásia antes do seu aparecimento. A hipertermia é um dos principais sinais inespecíficos de PIF (Sykes 2013) e foi registada em 11 gatos (61,1%).

No que toca a doenças concomitantes, uma pequena proporção de gatos apresentou doença concomitante não infecciosa, 11,1%, nomeadamente doença renal crónica e colangohepatite e pancreatite, que são doenças que diminuem a qualidade de vida, podendo mesmo piorar o prognóstico de um gato com PIF. Relativamente às doenças concomitantes infecciosas a proporção de gatos afetados foi mais elevada (22,2%), sendo que a maioria foi afetada por DTRSF e apenas 1 apresentou FIV. A DTRSF é considerada um fator de stress para o desenvolvimento de PIF (Riemer et al. 2016), por causar uma diminuição da resposta do sistema imunitário. Infecções oportunistas retrovirais, como o FIV e o vírus da leucemia felina (FeLV), que causam supressão imunológica, reduzem a imunidade e aceleram a progressão da doença. Mesmo em gatos que superaram infeção inicial pelo coronavírus, a reativação do BVPIF ocorre no caso de infeção secundária por FIV ou FeLV, resultado em morte em pouco tempo. Assim, as infeções secundárias por FIV e FeLV são um fator predisponente para o desenvolvimento de PIF e progressão da doença. Os retrovírus são responsáveis por uma diminuição da resposta imunitária, tanto na resposta humoral (linfócitos B) como na celular (linfócitos T). No entanto, infeção secundária por FeLV causa uma maior supressão destes mecanismos do sistema imunitário (Aydin and Yildirim 2019).

Num estudo recente, em 15 gatos com PIF diagnosticada através de imunohistoquímica, verificou-se que todos apresentavam FeLV e apenas um FIV (Aydin and Yildirim 2019). Comparando estes resultados com os do presente estudo, em que não se verificou nenhum gato com FeLV e apenas um com FIV, a discrepância pode ser justificada pelo fato de a amostra de gatos em ambos os estudos ser muito pequena, apresentando-se como um fator limitante do estudo. É ainda de realçar que no estudo de Aydin e Yildirim (2019) a amostra de gatos representa um grupo restrito de gatos, todos da raça Van Turco que chegaram à Universidade de Van Yüzüncü Yıl entre 2014 e 2015 para análise *post-mortem*.

A mediana da duração dos internamentos foi de 3 dias ( $3,05 \pm 1,73$  dias) e contabilizou todos os gatos que tiveram alta e os que morreram durante a hospitalização. Não podendo fazer comparação entre medianas, a média deste estudo é semelhante à identificada num estudo anterior ( $3,5 \pm 1,3$  dias), no entanto, contabilizou apenas os animais que tiveram alta (Machado 2016). A duração dos internamentos justifica-se pelo facto de a PIF ser uma doença fatal, que levou à morte ou à realização da eutanásia devido ao mau prognóstico e incapacidade de com tratamento médico de suporte conseguir melhorar a qualidade de vida.

Realizaram-se 20 internamentos, em que dois gatos voltaram posteriormente para um segundo internamento. Um voltou após 6 meses, onde foi diagnosticado com PIF e outro após 7 meses.

O desfecho infeto contagioso revelou que 83,3% dos gatos morreu ou foi submetido a eutanásia, durante o internamento ou no seguimento. A PIF é uma doença fatal pelo que os gatos encontram-se muitas vezes num estado avançado da doença quando esta é

diagnosticada (Sykes 2013). Três gatos tiveram alta infeto contagiosa, por se apresentarem estáveis ou com melhoria clínica aquando do último seguimento registado.

Mais de metade dos gatos (66,6%) morreu ou foi submetido a eutanásia em consequência da doença. Relativamente aos restantes, um gato melhorou após entrar num ensaio terapêutico com a molécula GS-441524. Os restantes 2 foram classificados como crónicos, pois apesar de não terem melhorado, à data do último seguimento apresentavam-se estáveis, indicando que a medicação paliativa proporcionou alguma qualidade de vida. Outra hipótese é a de a progressão da doença variar consoante o sistema imunitário do animal. Um fator limitante deste estudo poderá estar relacionado com o período de tempo compreendido não ter sido suficiente para documentar a morte em consequência da progressão da doença. Segundo o estudo de Kipar e Meli (2014) verificou-se que a progressão da doença num grupo de gatos infetados naturalmente, desde o momento da deteção dos sinais clínicos até à morte, decorreu entre 6 a 42 dias, em média 14 dias. Está documentado o caso de um gato de 4 anos, diagnosticado com PIF, com uma sobrevida de 787 dias após a apresentação dos primeiros sinais clínicos (Hugo and Heading 2015).

Não existe vacina comercializada em Portugal, consequentemente não foi investigada a proteção conferida pela vacinação.

## **8.2 Análise do líquido de derrame**

A presença de líquido de derrame facilita o diagnóstico uma vez que os exames realizados em líquido de derrame têm maior valor de diagnóstico do que os testes no sangue (Kipar and Meli 2014).

Foi realizada análise citológica de 9 amostras de líquido de derrame, correspondentes a apenas 8 dos 15 gatos com líquido de derrame pleural ou torácico, que pode ser justificado por questões monetárias da parte dos donos ou a existência de métodos de diagnóstico mais sensíveis e definitivos, que colocam de lado a necessidade de analisar citologicamente o líquido de derrame. De acordo com a literatura sabe-se que valores de rácio A:G inferiores a 0,4 e proteína total superior a 3,5 g/dL são sugestivos de PIF (Sykes 2013; Kipar and Meli 2014). O aumento da proteína total é consequência do aumento das globulinas (Hartmann et al. 2003). Um rácio de valor superior a 0,8 é pouco indicativo da doença, com um valor preditivo negativo de 61%, dependendo sempre da prevalência da doença na população estudada (Hartmann et al. 2003; Addie et al. 2009).

Quando não foi possível obter informações do líquido de derrame extrapolou-se estes princípios para o sangue, de forma a obter rácios albumina:globulina ou albumina:proteína total de todos os animais que realizaram análises sanguíneas.

### **8.3 Achados hematológicos e bioquímicos**

Apenas 5 gatos realizaram análise de bilirrubina total e todos apresentavam valores superiores aos de referência, destes apenas dois apresentavam icterícia e a forma exsudativa. Apesar da icterícia ser um sinal clínico de PIF relativamente comum (Sykes and Greene 2011; Sykes 2013; Tasker 2018), a sua ausência não permite descartar o seu diagnóstico de PIF. Como seria de esperar a bilirrubinemia em gatos com PIF não se relacionou com o aumento das enzimas hepáticas, porque não é o reflexo de doença parenquimatosa hepática, mas sim devido à excessiva sensibilidade eritrocitária, que leva ao aumento da destruição dos eritrócitos (Riemer et al. 2016). No estudo de Riemer et al. (2016) dos gatos com hiperbilirrubinemia 67,9% apresentavam derrame e 42,8% não, possivelmente por a vasculite ser mais exuberante na forma exsudativa da PIF. Desta forma, as alterações encontradas na fosfatase alcalina e na alanina aminotransferase refletem os animais com colangiohepatite e lipidose hepática concomitantes. Um gato apresentava insuficiência renal crónica, com aumento de ureia e creatinina. Os restantes casos em que a ureia se encontra elevada pode se dever à desidratação.

A diminuição da albumina sérica está geralmente associada à diminuição de produção por insuficiência hepática ou feedback negativo pelas globulinas, e/ou à perda de proteína por glomerulopatia, secundária à deposição de complexos imunes, nos derrames durante vasculite ou por enteropatia exsudativa (Hartmann, 2005; Addie et al., 2009). No nosso estudo 57,1% dos gatos apresentavam valores de albumina abaixo do valor de referência. O aumento da proteína total, que é composta pelas frações das globulinas, assim como pela albumina, é considerado um dos achados laboratoriais mais comuns em gatos com PIF. Contudo no estudo de Riemer et al. (2016) a hiperproteinemia foi encontrada em menos de 20% dos gatos com PIF, em contraste com os 43,8% registados na UIDI.

Foram observadas alterações hematológicas em todos os gatos com PIF, cerca de 77,8% dos gatos apresentavam anemia, sendo a anemia moderada não regenerativa o mais comum em gatos com PIF (Sykes 2013). No presente estudo não foi possível avaliar o carácter regenerativo ou não da anemia, por ausência dos valores de contagem dos reticulócitos.

Uma grande proporção dos gatos (83,3%) apresentavam trombocitopenia, que é um achado comum em gatos com PIF (Sykes 2013). No entanto, este não é o valor real, porque quase todos apresentavam agregação plaquetária. Em comparação com o estudo de Riemer et al. (2016) apenas 27,8% dos gatos apresentavam trombocitopenia.

No estudo de Riemer et al. (2016) foi observada linfopenia em 49,5% de 126 gatos com PIF, o que está de acordo com o fato de a linfopenia ocorrer por apoptose das células T em formas de PIF exsudativa e não exsudativa (Paltrinieri et al. 2001; Hartmann 2005; Addie et al. 2009; Riemer et al. 2016). Possivelmente devido à migração perivascular de linfócitos



secundário à vasculite, a linfopenia é um achado mais comum em gatos com líquido de derrame (Riemer et al. 2016). No presente estudo, apenas 5 dos 15 gatos com líquido de derrame apresentavam linfopenia. No entanto, a totalidade de gatos com linfopenia representava 53,3% de um total de 15 gatos, o que significa que os gatos com PIF não exsudativa também apresentavam linfopenia.

É comum encontrar neutrofilia nos gatos com PIF, por vezes com desvio à esquerda. No presente estudo observou-se uma frequência significativa de gatos com neutrofilia 40%. Uma possível justificação para este achado é de que a neutrofilia se deva a alterações inespecíficas da medula óssea, nomeadamente hiperplasia neutrófilo-granulocítica (Riemer et al. 2016). Quando comparando com 44,3% casos de neutrofilia observados em 184 gatos com PIF do estudo de Riemer et al. (2016), o estudo presente obteve-se um resultado semelhante.

#### **8.4 Distribuição temporal**

Um estudo anterior observou uma maior frequência de casos distribuída entre agosto e fevereiro (Machado 2016). O presente estudo, com maior extensão temporal e aceitando apenas diagnósticos definitivos não confirma esse padrão. A partir de 2019 observou-se um aumento de casos diagnosticados de PIF, que pode ser devido à introdução do teste de PCR em tempo real do vírus mutado para PIF em janeiro de 2019.

#### **8.5 Fatores de risco**

A diferença encontrada entre as idades dos gatos com PIF com as do grupo de controlo hospitalizados na UIDI foi estatisticamente significativa ( $p=0,03899$ ), o que suporta a ideia de que a idade é um fator de risco para a ocorrência de PIF, nomeadamente até aos 3 anos de idade (Sykes 2013).

Identificou-se a raça como fator de risco para PIF ( $p=0,001143$ ). Na literatura está descrito que ser de raça é um fator de risco para o desenvolvimento de PIF, apesar de as raças de risco variarem consoante o estudo (Sykes 2013). Diversos estudos apontam diversas raças como mais representadas nos casos de PIF. O estudo de Norris et al. (2005) reporta Birmanês, Britânico de pelo curto, Cornish Rex e Mist Australiano como raças super representadas, por oposição ao Persa e ao Doméstico de pelo curto, que se encontram sub-representadas.

O estilo de vida não foi estatisticamente significativo ( $p=0,2206$ ), uma justificação para este fato pode ser uma elevada proporção de gatos com o estilo de vida desconhecido. O estudo de Machado (2016) verificou que ter acesso à rua é um fator de proteção, o que é justificado pelo fato de os gatos que vivem em apartamento, ao contrário dos que tem acesso a exterior, não variam o local de deposição das suas fezes sendo os caixotes de areia uma

das principais fontes de contágio de FCoV (Addie et al. 2009). Esta situação é particularmente importante em casas com mais de 6 gatos (Sykes 2013).

Quanto à origem foi possível encontrar uma associação estatística ( $p=0,03812$ ). Está descrito na literatura que em animais provenientes de abrigos, 10% destes gatos acabam por desenvolver PIF, devido à elevada densidade de gatos portadores de FCoV (Sykes 2013).

O número de gatos coabitantes não foi determinado como fator de risco. Coabitar com um número igual ou superior a 6 gatos não foi determinado como um fator de risco para o desenvolvimento de PIF, pois não se encontrou uma associação estatística ( $p=0,67$ ). Estes resultados diferem dos relatados por Sykes (2013), em que em ambientes com pelo menos 6 gatos poderão atingir-se taxas de infeção de 50% a 100%, sendo que a doença se desenvolve em 10% destes gatos.

Por último, verificou-se uma associação estatística significativa quanto à presença de fatores de stress em animais que desenvolveram a doença ( $p=0,00097$ ). Estão descritos vários fatores de stress que contribuem para a imunossupressão dos animais infetados por FCoV virem a desenvolver PIF. Sykes (2013) distingue os seguintes episódios como alguns dos fatores responsáveis pela imunossupressão: infeção viral concomitante, stress por sobrepopulação, cirurgia ou transporte e fatores genéticos. Neste estudo não foram incluídos fatores genéticos, apenas dados colhidos na anamnese num período até cerca de 2 meses antes da presença dos primeiros sinais clínicos, tendo em conta que segundo Sykes and Greene (2011) a forma exsudativa desenvolve-se 4 a 6 semanas após o episódio stressante e a forma seca pode desenvolver-se meses a anos após o episódio stressante.

## **8.6 Sobrevivência**

Devido ao fato de a amostra estudada neste trabalho ser muito pequena as probabilidades calculadas pela função de sobrevivência, Gráfico 15, podem diferir quando aplicadas a uma população maior. O fato de grande parte dos gatos deste estudo terem morrido no próprio dia do diagnóstico justifica a muito baixa taxa de sobrevivência. A progressão rápida e letal da doença originou apenas 0,17% a 0,45% de probabilidade de sobrevivência. Observou-se ainda, que desde o diagnóstico até à morte, um gato sobreviveu 44 dias. Estes resultados estão de acordo com a literatura, em que um gato tem uma sobrevida de semanas após o diagnóstico, e que em apenas alguns casos estão documentados tempos de sobrevivência entre um e dois anos com recurso a tratamento por glucocorticoides (Sykes 2013).

Quando comparado com o trabalho de Inês Machado (2016) que tinha apenas 10 gatos diagnosticados com PIF, observou-se uma descida drástica na proporção de animais que sobreviveram à doença. Isto pode ser justificado com o número de animais do presente estudo ser superior e consequentemente mais significativo. Outra hipótese é o fato de este

estudo, por ter decorrido num maior período de tempo, um maior número de gatos ter morrido ou ter sido submetido a eutanásia.

Neste estudo, apenas 3 gatos se encontravam vivos até ao último seguimento, em que um melhorou após a toma do fármaco GS-441524. Não se sabe qual foi o desfecho final, porque deixou de ser seguido pelo HVE.

Está descrito o caso de um Britânico de pelo curto, do gênero masculino inteiro, de 4 anos que sobreviveu 787 dias após o início dos sinais clínicos. O mesmo estudo apresenta a hipótese de que possa existir uma forma menos patogénica de PIF, para a qual o prognóstico é mais favorável (Hugo and Heading 2015). Outro estudo aponta que animais com formas localizadas da doença podem entrar em remissão espontânea, sem recurso a tratamento (Pedersen 2014).

## **9. O futuro do tratamento da PIF**

O GS-441524 é o segundo fármaco antiviral estudado, depois do GC376 ter sido estudado para o tratamento de gatos com PIF, nos últimos anos (Kim et al. 2016; Murphy et al. 2018; Pedersen et al. 2018; Pedersen et al. 2019).

Estes fármacos atuam inibindo a replicação viral, o GS-441524 impede a transcrição do RNA viral e o GC376 bloqueia o corte das poliproteínas virais (Pedersen et al. 2018; Pedersen et al. 2019). Apesar de ambos os fármacos apresentarem resultados idênticos em cultura de tecidos e estudos clínicos, o GS-441524 parece ser o mais eficaz. Pois apenas 26 gatos tratados com GC376 permaneceram em remissão, em comparação com os 25 de 31 gatos tratados com GS-441524 (Pedersen et al. 2019). Dos 20 gatos tratados com GC376, 14 recidivaram e não responderam a novo tratamento, com GS-441524 apenas 1 não voltou a responder ao tratamento (Pedersen et al. 2018; Pedersen et al. 2019). Contudo é de destacar que o estudo de Pedersen et al. (2018) não realizou o tratamento durante 12 semanas sem interrupções, ao contrário do estudo de Pedersen et al. (2019), começou por fazer 2 semanas de GC376 e posteriormente aumentar o período de tratamento até obter a remissão dos sinais clínicos. Assim, um novo estudo clínico deve ser efetuado, usando um período de tratamento de no mínimo 12 semanas e uma amostra de gatos superior, para uma comparação mais fidedigna com o fármaco GS-441524.

É importante ter em conta que 1 gato no estudo de Pedersen et al. (2018) registou resistência ao GC376. Apesar o estudo de Pedersen et al. (2019) não ter registado nenhuma resistência, é necessário ter em consideração a possibilidade da ocorrência de resistência em estudos futuros, quando os gatos não respondem ao tratamento ou a resposta é inferior à esperada, quer em tratamentos primários ou secundários (Pedersen et al. 2019).

Gatos com PIF exsudativa de todas as idades responderam ao tratamento por GS-441524 e conseguiu-se a reversão da doença em gatos com PIF não exsudativa, pelo que

este fármaco poderá ter a capacidade de tratar PIF com qualquer apresentação clínica. Não foram documentadas alterações hematológicas ou bioquímicas durante um período de tratamento de 12 a 30 semanas, com a exceção de 1 gato (Pedersen et al. 2019). Ao contrário do estudo de Pedersen et al. (2018) no estudo de GS-441524 de Pedersen et al. (2019) não foram observadas alterações no desenvolvimento da dentição definitiva. Por último, foram observadas um pequeno número reações no local de administração do GS-441524, mas foram facilmente tratadas.

Em conclusão, ambas estas moléculas são promissoras, sendo ainda necessários mais estudos, com populações maiores e mais heterogênicas, por forma a verificar que qualquer animal, de qualquer raça, idade e apresentação clínica beneficiará destes fármacos.

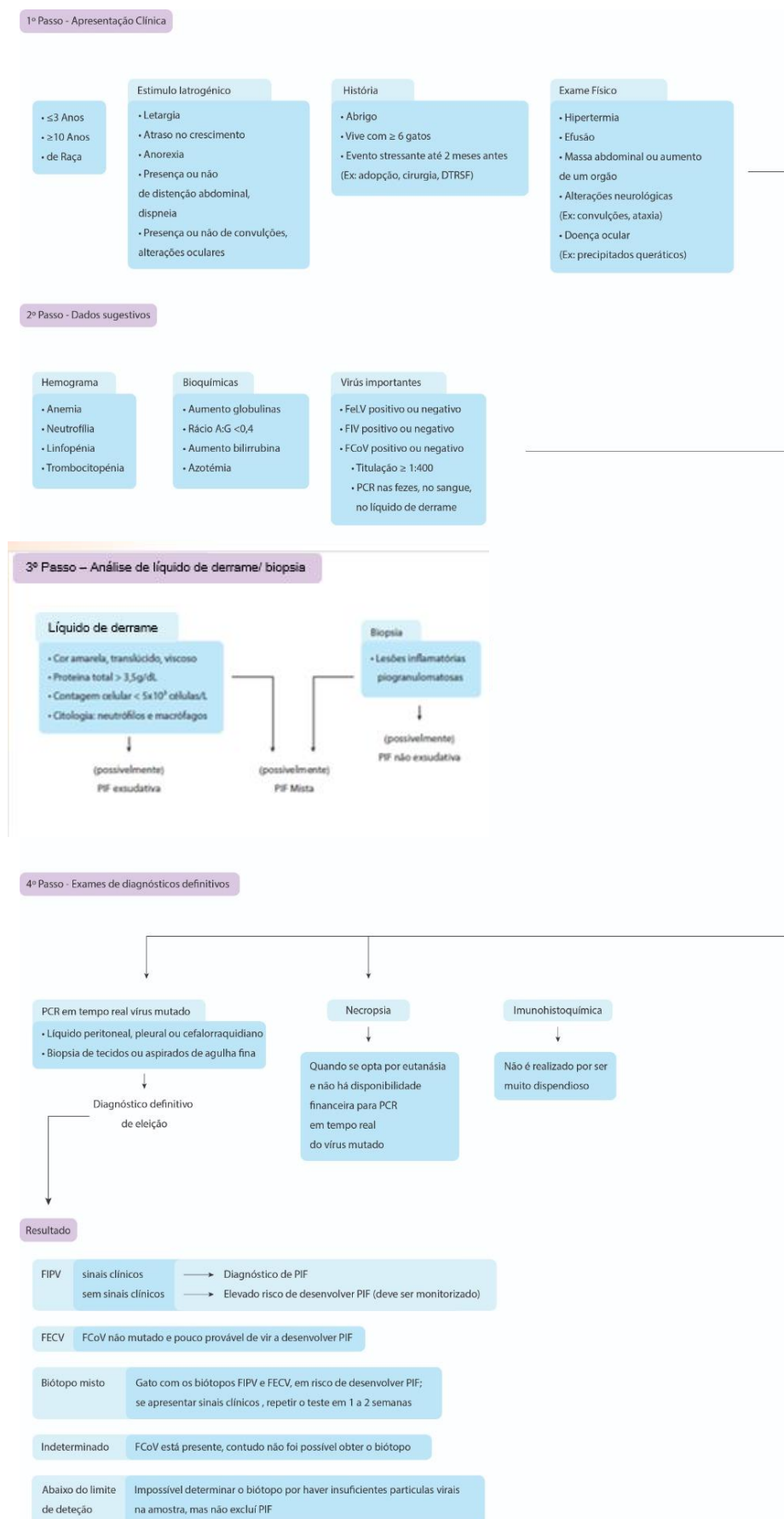
## **10. Conclusões**

Durante a realização deste estudo surgiram algumas questões que não conseguiram ser abordadas por falta de dados. O ideal seria ter uma amostragem maior e consequentemente mais significativa, visto que este é o maior fator limitativo do estudo. O preenchimento correto, assertivo e completo das fichas clínicas e anamnese é fundamental para direcionar o diagnóstico e estudos futuros. Nomeadamente no que respeita o estilo de vida e origem dos animais.

Na figura 7, propõe-se um fluxograma de identificação de fatores de risco e métodos de diagnóstico definitivos, tendo em conta a disponibilidade económica e condição clínica. Trata-se de uma doença de evolução, muitas vezes rápida e letal, sem tratamento efetivo disponível no mercado e cujos tratamentos paliativos têm custos muito elevados. No entanto, é de referenciar que novos estudos apontam para os fármacos GC376 e GS-441524 como potenciais tratamentos para a PIF (Murphy et al. 2018; Pedersen et al. 2018; Pedersen et al. 2019).

Este estudo permitiu, na população estudada, identificar fatores de risco como, exposição a stress, idade do gato, fator raça e a origem. Estes fatores foram estatisticamente significativos e influenciaram assim o desenvolvimento da doença.

Por outro lado, as principais barreiras encontradas foram a situação socioeconómica, havendo para alguns tutores uma falta de fundos para suportar os custos do diagnóstico e acompanhamento clínico posterior. Supõe-se que alguns dos gatos suspeitos de PIF poderiam ter obtido um diagnóstico definitivo de PIF, que ao ser realizado poderia ter aumentado a população de gatos com diagnóstico confirmado no nosso estudo.



**Figura 7 - Fluxograma de diagnóstico definitivo de gatos com PIF, baseado no esquema da IDEXX (2015)**

## 11. Bibliografia

Addie DD. 2018. Feline infectious peritonitis ( FIP ) treatment. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 5]. [https://d12geb6i3t2qyg.cloudfront.net/webinar\\_resources/1dbad80d-49af-4791-aab1-1291fd693745.pdf](https://d12geb6i3t2qyg.cloudfront.net/webinar_resources/1dbad80d-49af-4791-aab1-1291fd693745.pdf).

Addie DD. 2008. Feline Infectious Peritonitis. In: Veterinary Interferon Handbook. 2h ed. Cros, France. Virbac SA. p. 132-146

Addie DD, Boucraut C, Egberink HF. 2009. Feline infectious peritonitis . ABCD guidelines on prevention and management. J Feline Med Surg. 11(October 2017). [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 5]. doi:10.1016/j.jfms.2009.05.008.

Aydin H, Yildirim S. 2019. Investigation of the relation between feline infectious peritonitis and retroviruses in cats. GSC Biol Pharm Sci. 6(2):071–078. doi:10.30574/gscbps.2019.6.2.0011.

Bell ET, Toribio JALML, White JD, Malik R, Norris JM. 2006. Seroprevalence study of feline coronavirus in owned and feral cats in Sydney, Australia. Aust Vet J. 84(3):74–81. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 5]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16555552>.

Chang HW, Egberink HF, Halpin R, Spiro DJ, Rottie PJM. 2012. Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. Emerg Infect Dis. 18(7):1089–1095. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 25]. doi:10.3201/eid1807.120143.

Desmarets LMB, Vermeulen BL, Theuns S, Conceição-Neto N, Zeller M, Roukaerts IDM, Acar DD, Olyslaegers DAJ, Van Ranst M, Matthijssens J, et al. 2016. Experimental feline enteric coronavirus infection reveals an aberrant infection pattern and shedding of mutants with impaired infectivity in enterocyte cultures. Sci Rep. 6(January):1–11. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 5]. doi:10.1038/srep20022. <http://dx.doi.org/10.1038/srep20022>.

Drechsler Y, Alcaraz A, Bossong FJ, Collisson EW, Diniz PPVP. 2011. Feline Coronavirus in Multicat Environments. Vet Clin North Am - Small Anim Pract. 41(6):1133–1169. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 30]. doi:10.1016/j.cvsm.2011.08.004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.08.004>.

E. Chandler, R. Gaskell CG. 2008. Feline Medicine and Therapeuti. 3rd Editio. Blackwell Publishing. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 15]. <https://www.wiley.com/en-us/Feline+Medicine+and+Therapeutics,+3rd+Edition-p-9780470690727>.

de Groot-Mijnes JDF, van Dun JM, van der Most RG, de Groot RJ. 2005. Natural History of a Recurrent Feline Coronavirus Infection and the Role of Cellular Immunity in Survival and Disease. J Virol. 79(2):1036–1044. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 7]. doi:10.1128/jvi.79.2.1036-1044.2005.

Hartmann K. 2005. Feline infectious peritonitis. Vet Clin North Am - Small Anim Pract. 35(1 SPEC. ISS.):39–79. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 10]. doi:10.1016/j.cvsm.2004.10.011.

Hartmann K, Binder C, Hirschberger J, Cole D, Reinacher M, Schroo S, Frost J, Egberink H, Lutz H, Hermanns W. 2003. Comparison of Different Tests to Diagnose Feline Infectious Peritonitis. J Vet Intern Med. 17(6):781–790. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 3]. doi:10.1892/0891-6640(2003)017<0781:CODTTD>2.3.CO;2.

Hugo TB, Heading KL. 2015. Prolonged survival of a cat diagnosed with feline infectious

peritonitis by immunohistochemistry. *Can Vet J.* 56:53–58. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4266056/#>.

IDEXX Reference Laboratories now offers the Feline Infectious Peritonitis (FIP) Virus RealPRCTM Teste to aid in diagnosis of this devastating feline disease [Internet]. [Acedido 2020 Fevereiro 16]. <https://www.idexx.com/files/feline-infectious-peritonitis-virus.pdf>

ISFM. 2019. ISFM European Feline Congress Proceedings 2019. In: ISFM, editor. ISFM European Feline Congress Proceedings 2019. Cavtat: ISFM. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 17].

Kim Y, Liu H, Galasiti Kankanamalage AC, Weerasekara S, Hua DH, Groutas WC, Chang KO, Pedersen NC. 2016. Reversal of the Progression of Fatal Coronavirus Infection in Cats by a Broad-Spectrum Coronavirus Protease Inhibitor. *PLoS Pathog.* 12(3):1–18. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 8]. doi:10.1371/journal.ppat.1005531.

Kipar A, Baptiste K, Barth A, Reinacher M. 2006. Natural FCoV infection: Cats with FIP exhibit significantly higher viral loads than healthy infected cats. *J Feline Med Surg.* 8(1):69–72. [Internet]. [Acedido 2019 Dezembro 19]. doi:10.1016/j.jfms.2005.07.002.

Kipar A, Meli ML. 2014. Feline Infectious Peritonitis: Still an Enigma? *Vet Pathol.* 51(2):505–526. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 6]. doi:10.1177/0300985814522077.

Legendre AM, Kuritz T, Galyon G, Baylor VM, Heidel RE. 2017. Polypropenyl immunostimulant treatment of cats with presumptive non-effusive feline infectious peritonitis in a field study. *Front Vet Sci.* 4(FEB). [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 21]. doi:10.3389/fvets.2017.00007.

Lewis KM, O'Brien RT. 2010. Abdominal ultrasonographic findings associated with feline infectious peritonitis: A retrospective review of 16 cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 46(3):152–160. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 21]. doi:10.5326/0460152.

Licitra BN, Millet JK, Regan AD, Hamilton BS, Rinaldi VD, Duhamel GE, Whittaker GR. 2013. Mutation in spike protein cleavage site and pathogenesis of feline coronavirus. *Emerg Infect Dis.* 19(7):1066–1073. [Internet]. [Acedido 2019 Dezembro 28]. doi:10.3201/eid1907.121094.

Machado I. 2016. Frequência de doenças infecciosas em carnívoros domésticos hospitalizados na unidade de isolamento do hospital escolar da faculdade de medicina veterinária da universidade de Lisboa de Outubro de 2013 a Janeiro de 2016. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 19]. <http://hdl.handle.net/10400.5/12511>

Malbon AJ, Meli ML, Barker EN, Davidson AD, Tasker S, Kipar A. 2019. Inflammatory Mediators in the Mesenteric Lymph Nodes, Site of a Possible Intermediate Phase in the Immune Response to Feline Coronavirus and the Pathogenesis of Feline Infectious Peritonitis? *J Comp Pathol.* 166:69–86. doi:10.1016/j.jcpa.2018.11.001. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 17]. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2018.11.001>.

Murphy BG, Perron M, Murakami E, Bauer K, Park Y, Eckstrand C, Liepnieks M, Pedersen NC. 2018. The nucleoside analog GS-441524 strongly inhibits feline infectious peritonitis (FIP) virus in tissue culture and experimental cat infection studies. *Vet Microbiol.* 219(February):226–233. doi:10.1016/j.vetmic.2018.04.026. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 14]. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.026>.

Negrin A, Schatzberg S, Platt SR. 2009. The paralyzed cat. Neuroanatomic diagnosis and specific spinal cord diseases. *J Feline Med Surg.* 11(5):361–372. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 18]. doi:10.1016/j.jfms.2009.03.004.

Norris J. 2007. Updates in FIP: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. *World Small Anim Vet Assoc World Congr Proc.*(2006):1–5. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 21]. <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11242&meta=generic&catId=31922&id=3860779>.

Norris JM, Bosward KL, White JD, Baral RM, Catt MJ, Malik R. 2005. Clinicopathological findings associated with feline infectious peritonitis in Sydney, Australia: 42 cases (1990–2002). *Aust Vet J.* 83(11):666–673. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 14]. doi:10.1111/j.1751-0813.2005.tb13044.x.

Paltrinieri S, Grieco V, Comazzi S, Cammarata Parodi M. 2001. Laboratory profiles in cats with different pathological and immunohistochemical findings due to feline infectious peritonitis (FIP). *J Feline Med Surg.* 3(3):149–159. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 9]. doi:10.1053/jfms.2001.0126.

Pastoret PP, Henroteaux M. 1978. Epigenetic transmission of feline infectious peritonitis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 1(1–2):67–70. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 16]. doi:10.1016/0147-9571(78)90012-7.

Pedersen NC. 2014. An update on feline infectious peritonitis: Diagnostics and therapeutics. *Vet J.* 201(2):133–141. doi:10.1016/j.tvjl.2014.04.016. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 27]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.04.016>.

Pedersen NC, Kim Y, Liu H, Galasiti Kankanamalage AC, Eckstrand C, Groutas WC, Bannasch M, Meadows JM, Chang KO. 2018. Efficacy of a 3C-like protease inhibitor in treating various forms of acquired feline infectious peritonitis. *J Feline Med Surg.* 20(4):378–392. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 20].doi:10.1177/1098612X17729626.

Pedersen NC, Perron M, Bannasch M, Montgomery E, Murakami E, Liepnieks M, Liu H. 2019. Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis. *J Feline Med Surg.* 21(4):271–281. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 27].doi:10.1177/1098612X19825701.

Porter E, Tasker S, Day MJ, Harley R, Kipar A, Siddell SG, Helps CR. 2014. Amino acid changes in the spike protein of feline coronavirus correlate with systemic spread of virus from the intestine and not with feline infectious peritonitis. *Vet Res.* 45(1):1–11. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 5].doi:10.1186/1297-9716-45-49.

Riemer F, Kuehner KA, Ritz S, Sauter-Louis C, Hartmann K. 2016. Clinical and laboratory features of cats with feline infectious peritonitis – a retrospective study of 231 confirmed cases (2000–2010). *J Feline Med Surg.* 18(4):348–356. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 14]. doi:10.1177/1098612X15586209.

Ritz S, Egberink H, Hartmann K. 2007. Effect of feline interferon-omega on the survival time and quality of life of cats with feline infectious peritonitis. *J Vet Intern Med.*(21):1193–1197. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 25]. doi:10.1892/06-302.1.

Sykes J. 2013. *Canine and Feline Infectious Diseases*. 1st ed. Missouri: Elsevier Inc. p. 195–208



Sykes J, Greene CE. 2011. Feline coronavirus infection. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Elsevier Inc.; p.92-108

Takano T, Akiyama M, Doki T, Hohdatsu T. 2019. Antiviral activity of itraconazole against type I feline coronavirus infection. *Vet Res*. 50(1):1–6. doi:10.1186/s13567-019-0625-3. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 23].<https://doi.org/10.1186/s13567-019-0625-3>.

Tanaka Y, Sato Y, Sasaki T. 2017. Feline coronavirus replication is affected by both cyclophilin A and cyclophilin B. :190–200. [Internet]. [Acedido 2020 Janeiro 23]. doi:10.1099/jgv.0.000663.

Tasker S. 2018. Diagnosis of feline infectious peritonitis: Update on evidence supporting available tests. *J Feline Med Surg*. 20(3):228–243. [Internet]. [Acedido 2020 Fevereiro 11]. doi:10.1177/1098612X18758592.